

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE WIRKSAMKEIT VON ETOMOXIR,
EINEM SUBSTITUIERTEN OXIRANCARBONSÄUREETHYLESTER,
BEI DER KETOSE DER MILCHKUH

RUTH STEINKE

Disbui. München

1987



Aus der Medizinischen Tierklinik
(Lehrstuhl für Innere Krankheiten der Klauentiere)
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. Dr. h.c. G. Dirksen

Untersuchungen über die Wirksamkeit von Etomoxir,
einem substituierten Oxirancarbonsäureethylester,
bei der Ketose der Milchkuh

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Ruth Steinke
aus Singen

München 1987

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. H. Zucker

Referent: Prof. Dr. Dr.h.c. G. Dirksen

Korreferent: Prof. Dr. K. Tempel

Tag der Promotion: 24. Juli 1987

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

	Seite
EINLEITUNG	1
LITERATURÜBERSICHT	2
Wesen der Ketose des Rindes	2
Biochemische Befunde bei der Ketose	3
Ketonkörpersynthese und -umsetzung beim gesunden Tier	4
Pathogenese der Ketose des Rindes	6
- Wechsel zwischen anabolem und katabolem Stoffwechsel	6
- Entgleisung des Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsels	9
Steuerung des Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsels	12
Therapie der Ketose beim Rind	14
- Therapieansatz beim Kohlenhydratstoffwechsel	14
- Therapieansatz beim Lipidstoffwechsel	16
Einige Angaben zum Testpräparat Etomoxir	17
EIGENE UNTERSUCHUNGEN	
METHODIK	20
Untersuchte Tiere	20

	Seite
T e s t p r ä p a r a t	21
A n o r d n u n g d e r U n t e r s u c h u n g e n	22
Voruntersuchungen	22
- Untersuchungen an gesunden Kühen zur Ermittlung von Referenzwerten	22
- Untersuchungen an gesunden Kühen zur Ermittlung der Verträglichkeit und Wirksamkeit des Testpräparates	22
Hauptuntersuchungen	23
- Testung des Präparates an Kühen mit Ketonurie	23
- Testung des Präparates an Kälbern	24
P r o b e n g e w i n n u n g	25
U n t e r s u c h u n g s t e c h n i k	26
ERGEBNISSE	32
V o r u n t e r s u c h u n g e n	32
Untersuchungen an gesunden Kühen zur Ermittlung von Referenzwerten	32
Untersuchungen an gesunden Kühen zur Prüfung der Verträglichkeit und Wirksamkeit des Präparates	34
H a u p t u n t e r s u c h u n g e n	37
Behandlungsergebnisse bei erwachsenen Rindern mit Ketonurie	37

	Seite
- Behandlungsergebnisse bei der intravenösen Verabreichung von 2,5 g Etomoxir pro Tier an drei Kühe mit Ketonurie	39
- Behandlungsergebnisse bei der intravenösen Verabreichung von 5,0 g Etomoxir pro Tier an zwei Kühe mit Ketonurie	45
- Behandlungsergebnisse bei Anwendung der Standardtherapie an Kühen mit Ketonurie	49
Behandlungsergebnisse bei der intravenösen Verabreichung von 250 mg Etomoxir pro Tier an Kälber mit Enteritis catarrhalis acuta	54
 DISKUSSION	 62
 ZUSAMMENFASSUNG	 72
 SUMMARY	 75
 ANHANG	 78
(Diagramme)	
 LITERATURVERZEICHNIS	 93
 LEBENS LAUF	

E I N L E I T U N G

Durch die ständige Steigerung der Milchleistung ist die Ketose zu einer der wichtigsten Erkrankung der hochlaktierenden Kuh geworden. Früher hauptsächlich in kleinbäuerlichen Betrieben als "Unterfütterungs-azetonämie" bekannt, trifft sie heute vor allem gut genährte bis fette Hochleistungskühe in den ersten Wochen post partum. Sie führt durch die Minderung der Milchleistung zu starken wirtschaftlichen Einbußen. Den großen Stellenwert der Ketose innerhalb der Stoffwechselerkrankungen der Wiederkäuer zeigt auch die große Zahl der wissenschaftlichen Veröffentlichungen zu diesem Thema.

In therapeutischer Hinsicht wird zur Zeit das Hauptaugenmerk auf die Entgleisungen des Kohlenhydratstoffwechsels während der Ketose gerichtet. Es wird versucht, den Mangel an Glukose, die hauptsächlich zur Bildung der Laktose herangezogen wird, zu substituieren. Adäquate Mittel, um die gleichzeitig auftretende, überschießende Lipolyse zu beeinflussen, sind bis heute kaum bekannt. Mir wurde daher die Aufgabe gestellt, eine an kleinen Labortieren angewandte, antiketogene Substanz, die die β -Oxidation der freien Fettsäuren hemmt, als Therapeutikum für die Behandlung der Ketose der hochlaktierenden Kuh zu prüfen.



L I T E R A T U R Ü B E R S I C H T

Wesen der Ketose des Rindes

Das hervorstechendste biochemische Merkmal der Ketose (auch Azetonämie oder -urie genannt), ist die vermehrte Produktion der drei Ketonkörper Azetazetat, β -Hydroxybutyrat und Azeton, was einen Anstieg dieser drei Stoffwechselprodukte im Blut, in der Milch und im Urin zur Folge hat (Baird et al., 1974).

Von der Ketose werden vor allem Kühe mit guter bis sehr guter Milchleistung im Zeitraum zwei bis zehn Wochen post partum betroffen. Es sind oft Tiere in gutem Nährzustand (Baird et al., 1974; Morrow, 1975; Stöber und Dirksen, 1982).

Während der Hochlaktation müssen täglich bis zu 2 kg Milchfett gebildet werden, bis zu 2000 g Glukose werden gebraucht zur Synthese des Milchzuckers. Auch bei ausgewogenem Nahrungsangebot post partum ist die hochlaktierende Kuh kaum in der Lage, diese Energiemengen mit dem Futter aufzunehmen. Sie kommt daher in ein Energiedefizit, das sie durch den Abbau der körpereigenen Fettreserven zu kompensieren sucht. Die Ketose stellt das krankhafte Überschießen dieses Kompensationsmechanismus' dar.

Die Untersuchung des Patienten ergibt eine Reihe unspezifischer klinischer Symptome wie Fraßunlust - meist wird nur noch das Heu gefressen und das Kraftfutter liegen gelassen - verminderte Milchleistung, Abmagerung, herabgesetzte Vormagentätigkeit, das Absetzen von kleineren Mengen trockenen Kotes. Oft läßt sich auch eine Vergrößerung des Leberperkussionsfeldes und eine Klopfempfindlichkeit der Leber feststellen (Forenbacher, 1967). Nicht selten fällt das Azeton in den Ausdünstungen der Tiere durch einen süßlichen Geruch

auf. Bei schweren Erkrankungen können nervöse Symptome auftreten.

Das klinische Bild einer - primären - Ketose kann überlagert werden durch Symptome anderer Erkrankungen (Metritis, Retentio secundinarium, Klauengeschwüre, Labmagenverlagerung), die den Appetit der Kuh zusätzlich mindern (sekundäre Ketose, Baird et al., 1974). Stöber und Dirksen (1982) halten es jedoch für sehr schwer feststellbar, ob ein in Zusammenhang mit der Ketose beobachtetes Leiden als Auslöser, Unterhalter oder Begleiter betrachtet werden kann. Sicher ist, daß die Prognose dieser Krankheiten ungünstiger zu stellen ist, wenn sie in Zusammenhang mit einer Ketose auftreten.

Biochemische Befunde bei der Ketose

Die drei wichtigsten biochemischen Blutparameter bei der Manifestation der Ketose sind die Glukose, die freien Fettsäuren und die Ketonkörper.

Die Konzentration des Blutzuckers, die normalerweise bei 60-80 mg/dl Blut liegt (Stöber und Gründer, 1977), sinkt bis unter 40 mg/dl ab (Metzger, 1983). Dagegen steigt der Serumgehalt an freien Fettsäuren über den normalen Wert von 14 mg/dl. Kronfeld (1961) sieht in den freien Fettsäuren einen Indikator für das Ausmaß der Lipidmobilisation. Untersuchungen mehrerer Autoren zufolge sind Glukose und freie Fettsäuren negativ korreliert, ebenso die Glukose und die Ketonkörper (Adler, et al., 1963; Schultz, 1968; Le minh Chi et al., 1976). Im Gegensatz zu diesen Aussagen stehen Untersuchungen von Andersson (1984), der nur eine geringe Korrelation zwischen Glukose und Ketonkörpern nachweisen konnte. Unstrittig ist, daß die Erhöhung der Serumkonzentration der freien Fettsäuren mit einer Erhöhung des Gehaltes an Ketonkörpern im Blut einhergeht.

Gesunde Kühe haben im Blut einen Gehalt aller drei Ketonkörper von 2-10 mg/dl (Kolb, 1981). Bei Konzentrationen von 10-20 mg/dl spricht Kolb von einer subklinischen Ketose, bei einer klinischen Azetonämie werden Blutwerte von mehr als 20 mg/dl gemessen. Der Blutgehalt aller drei Ketonkörper liegt nach Bergmann (1970) bei gesunden Kühen unter 10 mg/dl, bei an Ketose erkrankten Tieren über 30 mg/dl. Messungen von Radloff et al. (1966) von Blutparametern bei gesunden Kühen vor und nach der Kalbung ergaben eine Schwankung der Blutgehalte der drei Ketonkörper. Zwei Wochen vor der Geburt lag der mittlere Wert bei 5.7 mg/dl, zwei Wochen nach der Geburt war durchschnittlich ein Maximum von 10.5 mg/dl erreicht. Das kann als Ausdruck der - physiologischerweise - erhöhten Fettmobilisation nach der Geburt interpretiert werden. Mehrere Autoren betonen, daß klinische Anzeichen einer Ketose bei unterschiedlichen Konzentrationen an Ketonkörpern im Blut beobachtet wurden, so daß keine genaue Angabe gemacht werden kann, ab wann klinische Symptome einer Azetonämie auftreten (Vazquez, 1970; Mäder, 1980). Für den Gehalt an Azetazetat im Blut werden bei gesunden Kühen Werte von 0.33-0.82 mg/dl beschrieben, für den Gehalt an Hydroxybutyrat im Blut 0.8-8.8 mg/dl. Bei manifester Ketose steigt der Serumgehalt an Azetazetat ungleich höher an als der von Hydroxybutyrat, jedoch bleibt die Konzentration an Azetazetat im Blut stets unter der von Hydroxybutyrat.

Es ist bis heute umstritten, ob die Freßunlust und die nervösen Symptome, die bei der Ketose auftreten, auf die Hypoglykämie (Bergmann, 1970) oder auf die Hyperketonämie (Kolb, 1981) zurückzuführen sind.

Ketonkörpersynthese und -umsetzung beim gesunden Tier

Der Wiederkäuer kann auf drei Arten Ketonkörper bilden:
- Den geringsten Anteil an der Synthese der Ketonkörper

- hat das Euter. Aus Hydroxybutyrat und Azetat wird in geringem Umfang Azetazetat gebildet (Kronfeld, 1971)
- Im Pansenepithel wird ein großer Teil der Buttersäure (bis zu 78 %) zu Hydroxybutyrat umgewandelt (Weigand et al., 1972). Die Menge des gebildeten Hydroxybutyrat ist abhängig von Art und Umfang der Futterration, da diese Einfluß auf die Quantität der drei wichtigsten Produkte der mikrobiellen Fermentation im Pansen hat: auf Azetat, Propionat und Butyrat.
 - Der wichtigste Syntheseort ist die Leber. Dort werden alle drei Ketonkörper gebildet. Die Synthese findet in den Mitochondrien der Leberzellen statt. Die wichtigsten Vorläufer der Ketonkörper sind die freien Fettsäuren mit 16-18 C-Atomen, die mobilisiert werden aus den körpereigenen Fettreserven. Von Bedeutung sind auch die kurzkettigen Fettsäuren, die aus der Nahrung stammen, vornehmlich Butyrat.

Aus Azetyl-CoA - das beim Abbau dieser freien Fettsäuren freigesetzt wird - und Azetazetyl-CoA wird durch ein Enzymsystem (β -Hydroxymethylglutaryl-CoA-Synthetase bzw. -Lyase) Azetazetat und Azetyl-CoA. Diese Reaktion spielt bei der Ketose die wichtigste Rolle. Die physiologische Bedeutung eines zweiten Weges - Bildung von Azetazetat aus Azetazetyl-CoA durch eine Hydrolase - ist vergleichsweise gering.

Aus Azetazetat entsteht einerseits unter Mitwirkung von NADH_2 und einer Dehydrogenase das stabile Hydroxybutyrat, andererseits durch eine Decarboxylase das flüchtige Azeton. Azeton kann bis zu 5 % der Gesamtmenge auch spontan aus Azetazetat entstehen (Bergmann, 1970). Mengenmäßig überwiegt das Hydroxybutyrat bei weitem die anderen beiden Ketonkörper, wobei das Pansenepithel als weiterer Syntheseort hierfür eine große Bedeutung hat.

Die Verwertung von Azetazetat und Hydroxybutyrat - Azeton ist relativ schlecht verwertbar - findet

hauptsächlich in Herz- und Skelettmuskulatur, in den Geweben des Magen- Darmtraktes und in den Nieren statt. Das Hydroxybutyrat wird dabei wieder in das Azetazetat umgewandelt und aus diesem mit Hilfe des Succinyl-CoA Azetyl-CoA gebildet. Das hierfür notwendige Enzym fehlt in der Leber, weshalb dort, am Hauptsyntheseort, Ketonkörper nicht zur Energiegewinnung herangezogen werden können (Karlson et al., 1978; Kolb, 1981). Das Euter verwendet das Hydroxybutyrat zur Synthese von MilCHFett. Unsicher ist, ob das zentrale Nervensystem der Wiederkäuer die Ketonkörper verwenden kann (Vazquez, 1970; Jones et al., 1975).

Bei geringem Angebot an Blutzucker kann die Bildung der Ketonkörper als "Glukosespareffekt" angesehen werden. Die Verwertung der Ketonkörper deckt dann beispielsweise beim Schaf bis zu 30 % des Energieverbrauchs (Adler, 1963; Kronfeld, 1969; Bergmann, 1970; Kanmula, 1976).

Ausgeschieden werden alle drei Ketonkörper hauptsächlich mit dem Urin, in dem die Konzentration viermal höher sein kann als im Blut und in der Milch. Eine geringe Bedeutung für die Ausscheidung kommt den Ausdünstungen der Tiere zu. Insgesamt werden jedoch nie mehr als 10 % der gebildeten Menge ausgeschieden.

Pathogenese der Ketose des Rindes

- Wechsel zwischen anablem und katabolem Stoffwechsel

Die Wiederkäuer haben - verglichen zu monogastrischen Tieren - viele Besonderheiten in der Verdauung und im Stoffwechsel der Kohlenhydrate und Fette. Die mit der Nahrung aufgenommenen Kohlenhydrate werden durch die mikrobielle Verdauung im Pansen hauptsächlich in die drei kurzkettigen Fettsäuren Essig-, Propion- und Buttersäure umgewandelt. Die Leber nimmt den größten

Teil des Propionats auf und bildet über den Weg der Glukoneogenese, mit Oxalazetat als wichtige Zwischenstufe, Glukose. Azetazat und Butyrat (dieses nach Umwandlung im Pansenepithel zu Hydroxybutyrat) werden teils verbrannt, teils im Fettgewebe zu Fettsäuren synthetisiert. Bei laktierenden Tieren bildet auch das Euter in nennenswertem Umfang Fettsäuren (Bickerstaff et al., 1974). Bis zu einem Drittel des Energieflusses bewerkstelligen beim Wiederkäuer die körpereigenen Fettdepots, da Glykogen nur in geringem Umfang zur Verfügung steht und Glukose überwiegend der laufenden Glukoneogenese entnommen werden muß.

Bis zum Zeitpunkt der Geburt hat die trächtige Kuh keine Schwierigkeiten, ihren Energiebedarf über die Glukoneogenese zu decken, im Gegenteil, sie kann noch Reserven in Form von Körperfett aufbauen. Zu Laktationbeginn befindet sich die Kuh jedoch in einer völlig anderen Stoffwechsellage. Von den in den Stoffwechsel eintretenden Glukosemolekülen werden 80 % zur Synthese der Laktose benötigt (Kolb, 1975), fehlen also als Energielieferant und im Intermediärstoffwechsel. Der Glukosespiegel fällt, und es entsteht eine Hypoglykämie. Außerdem werden auch 60 % der für die Bildung des Milchfetts benötigten Produkte dem Organismus entnommen (Stöber und Dirksen, 1982).

Zum Ausgleich muß die Kuh daher die Glukoneogenese intensivieren und noch stärker als gewöhnlich die körpereigenen Fettreserven nützen. Im Fettgewebe werden die Triglyceride durch Lipasen abgebaut, die dabei entstehenden freien Fettsäuren an Albumin gekettet, zur Leber transportiert und in den Mitochondrien der Leberzellen unter Bildung von NADH_2 zu Azetyl-CoA umgebaut.

Der Lipidstoffwechsel wird den Bedürfnissen zu diesem Zeitpunkt optimal angepaßt. In der Zeit um die Kalbung sinkt bei der Kuh die Ansprechbarkeit der Rezeptoren für Insulin, gleichzeitig fällt der Insulinspiegel kontinuierlich ab. Damit wird garantiert, daß im Blut genügend Glukose zur Laktosebildung im Euter

bereitgehalten wird. Darüberhinaus wird auf Grund des erniedrigten Insulinspiegels vermehrt Fett abgebaut. Nach Untersuchungen von Radloff et al. (1966) führt das bei laktierenden Kühen zu einem höheren Gehalt an freien Fettsäuren und Ketonkörpern im Blut als bei trockenstehenden, auf der anderen Seite ist der Blutzuckerspiegel niedriger. Abgesehen von dem erniedrigten Insulinspiegel wird auch über andere Mechanismen versucht, während der Geburt und Frühaktation genügend Energie in Form von freien Fettsäuren bereitzustellen:

- Kurz nach der Geburt wird die basale Lipolyse gesteigert (Metz und van den Bergh, 1977)
- Die Wiederveresterungsrate der freien Fettsäuren zu Triglyceriden im Fettgewebe ist zu diesem Zeitpunkt eingeschränkt (Metz und van den Bergh, 1977).
- Die lipogenetische Wirkung der Glukose ist nach der Kalbung aufgehoben (Kosak, 1980)

Hemmend auf den Anstieg der Konzentration der freien Fettsäuren wirkt der Gehalt an Albumin in Blut, das zum Transport der freien Fettsäuren vorhanden sein muß. Es wird auch eine hemmende Wirkung von Hydroxybutyrat auf die Lipolyse diskutiert.

Mehrere Autoren (Radloff et al., 1966; Dale et al., 1979; Kosak, 1980; Meyer, 1983; Wolfschaffner, 1984) haben den Anstieg und Abfall der freien Fettsäuren im Blut gesunder Kühe vor und nach der Kalbung untersucht. Unbestritten ist die Erhöhung der freien Fettsäuren schon Wochen vor der Geburt. Nach Radloff et al. und Dale et al. ist die Blutkonzentration der freien Fettsäuren zum Zeitpunkt der Geburt am höchsten, nach Kosak und anderen erst zwei Wochen später. Nach den Untersuchungsergebnissen aller Autoren ist die Konzentration des Blutzuckers bei Kühen zwei bis drei Wochen post partum am niedrigsten und die der Ketonkörper im Blut am höchsten.

Die große Menge an freien Fettsäuren, die bei den laktierenden Kühen zur Verfügung steht, führt zu einer starken Beanspruchung der Leber, die diese Fettsäuren

weiter verarbeitet. Durch die anabole Stoffwechsellaage ante partum kann die Leber hochtragender Kühe leicht verfetten und so die Fähigkeit einbüßen, genügend Lipoproteine zur Verfügung zu stellen. Die nach der Kalbung anfallenden freien Fettsäuren können noch zu Triglyceriden resynthetisiert werden, es fehlt jedoch an "Transportmittel", um sie wieder auszuschleusen. Die Verfettung nimmt dadurch weiter zu.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß es der frühlaktierenden Kuh gelingt, den Wechsel zwischen anaboler und kataboler Stoffwechsellaage zu bewältigen durch

- Intensivierung der Glukoneogenese
- Abbau von körpereigenen Fettdepots (dadurch verstärkt Bildung von freien Fettsäuren und Ketonkörpern) sowie durch
- mäßige Verfettung der Leber.

- Entgleisung des Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsels

Wie kommt es nun zu krankhaften Störungen des Stoffwechsels innerhalb der Adaptation an den erhöhten Leistungsbedarf während der Laktation?

Das Produkt der β -Oxidation der freien Fettsäuren in der Leber ist das Azetyl-CoA, das bei starker Lipolyse vermehrt anfällt. Drei Stoffwechselwege stehen dem Azetyl-CoA zur Verfügung: Der Zitratzyklus unter Anwesenheit von Oxalazetat, die Fettsäure-Resynthese und die Ketonkörperbildung (Kronfeld, 1965; Bergmann, 1970).

Damit Azetyl-CoA über den Zitratzyklus abgebaut werden kann, muß genügend Oxalazetat vorhanden sein. Das ist bei Kühen mit Ketose nicht der Fall. Eine Erklärung sieht Kolb (1981) darin, daß Oxalazetat verstärkt unter Verbrauch von NADH_2 zu Malat umgebildet wird. Bergmann (1970) ist wie Baird et al. (1974) der Auffassung, daß

der Mangel an Azetazetat auf das Fehlen der Vorläufer (Propionat, Laktat und Aminosäuren) zurückzuführen ist. Dale et al. (1979) und andere vertreten die Meinung, daß Oxalazetat vermehrt in der Glukoneogenese verbraucht wird (Anonym, 1968). Bässler (1971) wies experimentell nach, daß Oxalazetat ein Bindeglied zwischen der Glukoneogenese und der Ketogenese darstellt.

Die Fettsäure-Resynthese: Die Ursache der Ketose sieht Kronfeld (1961) eher in einem "lipogenetischen Block" als in einer verminderten Leistung des Zitratzyklus. Er räumt einen eventuellen Mangel an dessen Enzymen ein, unterstreicht jedoch die zentrale Bedeutung einer verminderten Resyntheserate des Azetyl-CoA zu Fettsäuren. Erklärt werden kann dies durch eine negative "feed-back" Wirkung des hohen Blutgehaltes an freien Fettsäuren auf die Fettsäuresynthese in der Leber.

Die Ketogenese: Bei Kühen mit Ketose beobachtete Bergmann (1970) einen linearen Anstieg der Konzentration der freien Fettsäuren und der Ketonkörper im Blut bis zu einem Punkt, an dem die alternativen Stoffwechselwege für das gebildete Azetyl-CoA gesättigt sind. Ab diesem Zeitpunkt steigt die Menge an Ketonkörpern unverhältnismäßig stark an. In der Leber dieser Tiere erhöht sich nach der Untersuchung von Kolb (1981) die Aktivität des wichtigsten Enzyms zur Bildung des Azetazetats (β -HMG-Synthetase, siehe Seite 5). An diesem Punkt "driftet" wohl die "physiologische Ketose" in eine "pathologische Ketose" ab (Bergmann, 1970).

Einig sind sich die meisten Autoren in der Auffassung, daß eine klinische Ketose nur bei einem Mangel an Blutzucker entstehen kann, d.h. daß einem erhöhten Spiegel an freien Fettsäuren im Blut bei physiologischer Konzentration an Glukose nicht zwingend eine Erhöhung der Ketonkörperkonzentration folgen muß (Adler, 1963; Radloff et al., 1966; Bergmann, 1970; Dale et al., 1979). Erst wenn der Blutzuckerspiegel abfällt, geht das Azetyl-CoA der freien Fettsäuren den Weg der Ketogenese.

Diese Meinung unterstreicht die zentrale Rolle des Oxalazetats, des Bindegliedes zwischen Glukoneogenese und Zitratzyklus.

Nach Stöber und Dirksen (1982) bedarf es mehrerer äußerer Vorraussetzungen zur Entgleisung in eine überschießende Lipolyse:

- sehr fette Tiere
- hohe Milchleistung
- eine Belastung um die Geburt (Auslöser).

Einer oder mehrere dieser Auslöser vermindern die Freßlust der Tiere und führen dadurch zu einem Mangel an Glukosevorläufern.

Bei der überschießenden Lipolyse während der Ketose wird die Leber noch stärker als unter physiologischen Umständen mit freien Fettsäuren überschwemmt. Kinsella und Butler (1969) und Henricson et al. (1977) fanden beide eine erhöhte Menge an Fett in der Leber von Kühen mit Mangelernährung bzw. Ketose. Der Anteil der freien Fettsäuren am Gesamtlipid war sehr hoch, dagegen hatten die Tiere einen Mangel an Lipoproteinen. Sie interpretieren das als Überbelastung der Leber mit Fett, die demzufolge nicht mehr in der Lage ist, genügend Lipoprotein zur Verfügung zu stellen. Für Reid (1973) bleibt es unklar, ob es sich dabei um einen Defekt in der Synthese und/oder in der Sekretion der Lipoproteine handelt. Metzger (1983) sieht darin kein Problem eines absoluten Blocks der Lipoproteinsynthese sondern eines relativen Ungenügens gegenüber den stark vermehrt anfallenden freien Fettsäuren. Auf einen Leberschaden weist auch die signifikante Korrelation einer erhöhten Konzentration an Azetazetat und einer ebenfalls erhöhten Konzentration der γ -Glutamyl-Transpeptidase im Blut von ketosekranken Kühen hin (Kauppinen, 1984). Auf jeden Fall ist in das Krankheitsbild der Ketose auch immer eine mehr oder weniger starke Verfettung der Leber mit einbezogen.

Steuerung des Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsels

"Ketogenesis seems to be controlled merely by the rate of free fatty acid mobilisation from the adipose tissue, in response to low blood glucose and with only part of the free fatty acids forming ketone bodies in the liver" (Bergmann, 1970).

Wie wird nun im Intermediärstoffwechsel die Umstellung von Lipogenese zu Lipolyse bei sinkender Blutglukosekonzentration gesteuert?

Die erste Erscheinung im Auftreten einer Azetonämie ist der Mangel an Blutzucker. Bei gesunden Kühen wird dieser Mangel durch eine erhöhte Sekretion von ACTH und Glukokortikoiden beantwortet und damit die Glukoneogenese stimuliert. Schon dieser erste Schritt scheint bei Kühen mit Azetonämie gestört zu sein. "Bei der Entstehung dieser Stoffwechselstörung spielt ein ungenügendes Wirksamwerden der endokrinen Regulation - meist in Form einer nicht genügenden Steigerung der Sekretion von Glukokortikoiden - eine maßgebliche Rolle" (Kolb, 1975).

Der Glukoseverbrauch wird vom Insulin gesteuert, einem Schlüsselenzym des Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsels. Es fördert den Einbau der Glukose in die Zellen und wirkt - beim Wiederkäuer besonders wichtig, da der Stimulus "Glukose" keine so bedeutende Rolle wie beim Monogastrier spielt - lipogenetisch, es senkt die Konzentration der freien Fettsäuren im Blut (Adler, 1975, Kolb, 1977). Nach Untersuchungen von mehreren Autoren (Schwalm und Schultz, 1976; Hove, 1978) ist der Insulinspiegel ante partum bei Kühen mit Ketoseverdacht normal, post partum jedoch liegt er niedriger als bei gesunden Kühen im frühen Laktationsstadium. Auch die Erhöhung der Insulinsekretion nach intravenösen Gaben von Glukose fällt nicht so deutlich aus wie bei vergleichbaren gesunden Tieren. Der niedrige Insulinspiegel während der Ketose ist eine direkte

Antwort... auf den niedrigen Glukosespiegel und verantwortlich für die erhöhte Lipolyse.

Auf der Basis eines niedrigen Insulinspiegels sind auch Adrenalin und das Wachstumshormon STH und beides lipolytische Hormone - für die hohe Konzentration an freien Fettsäuren mit verantwortlich. In Anwesenheit von freien Fettsäuren in der Leber fördert auch Glukagon die Bildung von Ketonkörpern, indem es die Aktivität des Schlüsselenzyms für den Fettsäureabbau - die Carnitin-Acyltransferase - fördert (Adler, 1975).

Es ist bei diesem diffizilen Stoffwechselgeschehen naheliegend, daß die laktierende Kuh durch die Einschränkung ihrer Milchleistung das Auftreten von Entgleisungen zu verhindern sucht. Die Sekretion von Hypothalamushormonen zur Förderung der Milchleistung wird jedoch bei Hochleistungstieren in den ersten Monaten der Laktation auch bei ungenügender Futteraufnahme kaum eingeschränkt (Kolb, 1981). Auch aus diesem Grund ist gerade die frühlaktierende Kuh ketosegefährdet.

Eine unterschiedliche Meinung zu der oben dargestellten Rolle von Insulin vertritt Kronfeld (1971). Seine Hauptthese: Eine klinische Ketose entwickelt sich aus einer subklinischen durch eine Erhöhung der Insulinsekretion. Als Folge des Energiedefizits der frühlaktierenden Kuh steigt der Gehalt an freien Fettsäuren im Blut an. Insulin verliert dabei nach Kronfelds Meinung viel von seiner antilipolytischen Wirkung und wird deshalb verstärkt ausgeschüttet. Auf der anderen Seite hat das eine Senkung des Blutzuckerspiegels zur Folge. Es manifestiert sich eine Hypoglykämie, eine klinische Ketose ist entstanden. Im weiteren Verlauf der Krankheit sinkt der Insulinspiegel wieder ab als Antwort auf den niedrigen Gehalt an Blutglukose. Für Kronfeld gilt die Folge: Ketose - Hypoglykämie - Hypophagie. Er betont im Gegensatz zu anderen Autoren: "I postulate, ... that in spontaneous

ketosis insulin becomes less able to suppress ketosis, becomes secreted in excess, and induces hypoglycemia. This endangers hypophagia which in turn inhibits further insulin release. (...) The chief malfactor, I suspect, will turn out to be insulin."

Therapie der Ketose beim Rind

- Therapieansatz beim Kohlenhydratstoffwechsel

Hauptziel der konventionellen Azetonurie-Behandlung ist es, den abgesunkenen Blutzuckerspiegel wieder anzuheben. Als Therapiemöglichkeiten kommen in Frage:

- Förderung der Aufnahme und Verwertung von Kohlenhydraten durch Futterumstellung, Regulierung der Pansenverdauung und - bei sekundärer Azetonämie - Behandlung der Begleiterkrankung, welche die Futteraufnahme vermindert (Gründer, 1961; Stöber und Dirksen, 1982).
- Orale Verabreichung von glukoplastischen Substanzen, vornehmlich Propylenglykol. Stöber und Dirksen (1982) empfehlen eine Dosis von zweimal 100-150 ml pro Tag. Emery (1964) berichtet, daß Propylenglykol im Pansen eine Halbwertszeit von einer Stunde hat, 99 % der verabreichten Menge wird in den Körper aufgenommen und metabolisiert. Unter Propylenglykol-Fütterung wird im Pansen der Anteil des Propionats an den flüchtigen Fettsäuren erhöht. Giesecke et al. (1975) weisen darauf hin, daß die Metabolisierung von Propylenglykol im Pansen die gleiche Rate wie die Resorption erreichen kann. Wichtig für die Beeinflussung des Blutzuckerspiegels durch Propylenglykol ist nach Giesecke et al. (1975) die Senkung des Azetazetat/Propionat-Quotienten im Pansen. Eine direkte Wirkung von Propylenglykol auf die Glukoneogenese erscheint ihnen nicht zwingend. Bei Verabreichung von Propylenglykol an gesunde Kühe und

an Rinder unter kataboler Stoffwechsellage konnten sie einen deutlich positiven Effekt auf den Blutzuckerspiegel nur bei Kühen im Hungerzustand nachweisen. Bei Untersuchungen von Steger et al. (1972) bewirkte die tägliche Applikation von 500 g Propylenglykol und 10 g Methionin an Hochleistungskühe post partum eine signifikante Erniedrigung des Blutketonkörpergehaltes und eine signifikante Zunahme des Blutzuckerspiegels.

- Glukoseinfusion, gegebenenfalls als Dauertropf-Infusion. Bei einer einmaligen Gabe großer Blutzuckermengen wird die Glukose bei Überschreiten der Nierenschwelle rasch eliminiert. Nach ein bis zwei Stunden ist die Ausgangskonzentration im Blut wieder erreicht. Es werden daher mehrmalige Glukosegaben im Abstand von mehreren Stunden empfohlen. Stöber und Dirksen (1982) schlagen bei leichten Fällen von Ketose die intravenöse Infusion von 150-200 g Glukose in einer 5-10prozentigen Lösung pro Tag vor. Roberts und Dye (1951) empfehlen 500-1000 ml einer 40prozentigen Lösung. Um die Aufnahme des Traubenzuckers in die Zellen zu beschleunigen, kann gleichzeitig zur Glukoseverabreichung eine Insulininjektion vorgenommen werden (0,5-0,75 IE pro kg KGW, Kedenburg und Mülling, 1971). Bei schweren Erkrankungen bieten sich intravenöse Infusionen über mehrere Tage an. Gründer (1961) konnte Fälle schwerer Azetonämie mit der Applikation von 3-9 l einer 10prozentigen Glukoselösung innerhalb von 24 bis 72 Stunden heilen. Stöber und Dirksen (1982) behandelten hartnäckige Fälle mit 10 l einer 10prozentigen Glukoselösung innerhalb von 2-3 Tagen.
- Parenterale Gabe von Glukokortikoiden oder ACTH. Eine immunsuppressive Wirkung muß jedoch bei dieser Therapie in Kauf genommen werden. Außerdem kann bei der erkrankten Kuh die Möglichkeit der Glukoneogenese erschöpft sein, so daß auch vermehrte Glukokortikoidgaben keinen Einfluß mehr haben.

- Therapieansatz beim Lipidstoffwechsel

Eine Behandlung der Ketose durch Eingriff in den Fettstoffwechsel erscheint nach obigen Überlegungen sinnvoll, wird jedoch bis heute kaum durchgeführt. Primäres Ziel muß es dabei sein, die Menge an Azetyl-CoA, die beim Fettabbau anfällt, zu begrenzen. Das ist zum einen durch eine Hemmung der Lipolyse im Fettgewebe möglich, zum anderen durch eine Blockierung der β -Oxidation, dem Abbaupfad der Fettsäuren in der Leber. Bei der Beeinflussung des Lipidstoffwechsels muß auf den Glukosehaushalt des Patienten geachtet werden. Der Abbau der Fettdepots ist für die kranke Kuh notwendig, um genügend Energie zur Verfügung zu haben. Hemmt man den Fettabbau, kann das Tier in ein schweres Energiedefizit geraten. Gegebenenfalls muß zur Unterstützung des Blutzuckerspiegels als ergänzende Therapie eine Glukoseinfusion gegeben werden.

- Durch ein vorübergehendes Einschränken des Ausmelkens wird der Energiebedarf des Tieres herabgesetzt.
- Neben der oben genannten Wirkung des Insulins auf den Glukosehaushalt ist auch die antilipolytische Eigenschaft des Hormons bei der Therapie der Ketose von Nutzen. Der Spiegel der freien Fettsäuren im Plasma kann nach Untersuchungen von Kronfeld (1965) und Radloff et al. (1966) durch Insulinverabreichung gesenkt werden. Beide fanden jedoch nur eine geringe Beeinflussung des Ketonkörperspiegels. Stöber und Dirksen (1982) empfehlen eine Dosis von 200-400 IE Protaminzink-Depotinsulin, möglichst in Kombination mit einem Glukokortikoid und Traubenzucker.
- Nikotinsäure hat einen positiven Effekt auf die Indikatoren der subklinischen Ketose, es wirkt antilipolytisch und glukoneogenetisch. Zum Zeitpunkt der Geburt über mehrere Tage gegeben, senkt es die Anfälligkeit für die klinische Ketose. Während Harmeyer (1981) täglich 3 g Niacin verabreichte, empfehlen sowohl Fronk und Schultz (1979) als auch

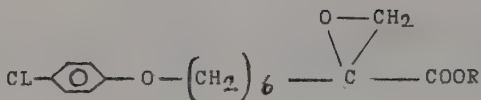
Stöber und Dirksen (1982) 12 g pro Tag.

Die Wirksamkeit lipotroper Substanzen wie Cholinchlorid ist beim Rind noch nicht erwiesen. Einer Untersuchung von Metzger (1983) zufolge ergab sich beim Vergleich einer Behandlung ketosekranker Kühe mit 100 g Glukose pro Tag einerseits und einer Verabreichung von zweimal 25 g Cholinchlorid pro Tag andererseits kein Unterschied.

- Schulz und Kewitz (1971) untersuchten den Effekt einer Applikation von Dimethylisoxazol (DMI) und Dimethylpyrazol (DMP) in der Dosierung von 2 mg und 4 mg pro kg KGW auf den Stoffwechsel ketosekranker Kühe. Beide Substanzen bewirken ein Absinken des Gehaltes an freien Fettsäuren und Ketonkörpern im Blut. DMP ist das stärker und länger wirksame Präparat. Bei leichter Ketose wurde nur mit DMP behandelt, was zum Erfolg führte. Schwere Ketosen sind jedoch nur mit zusätzlicher Glukoseinfusion positiv zu beeinflussen. Während der Dauer der Präparatwirkung sinken zwar die Konzentrationen der freien Fettsäuren und der Ketonkörper im Blut, die Hypoglykämie wird jedoch noch verstärkt. Nach Ablauf der Wirkung sind die Konzentrationen wieder auf derselben pathologischen Höhe wie zu Beginn der Behandlung. Die Autoren empfehlen daher bei schwerer Ketose, diese Präparate nicht ohne zusätzliche Stützung des Glukosespiegels zu verwenden.

Einige Angaben zum Testpräparat Etomoxir
(Produktinformation der Firma Byk Gulden)

Chemie: Etomoxir ist eine wasserunlösliche, ölige Substanz, die rein oder in speziellen galenischen Zubereitungen bei Raumtemperatur mindestens ein Jahr haltbar ist. Chemisch handelt es sich um einen Oxiran-Carbonsäureethylester.



Nomenklatur: 2- [6- (4-Chlorphenoxy)hexyl] -oxiran-
 2-carbonsäureethylester (B 807-54)
 Natrium 2- 6-[(4-Chlorphenoxy)hexyl] -oxiran-
 2-carboxylat-dihydrat (B 827-33)
 Molgewicht: 326,8 (B 807-54)
 356,8 (B 827-33)

Etomoxir ist sowohl als Ester als auch als Natrium-Salz der freien Säure wirksam. Das Natrium-Salz ist wasserlöslich, jedoch weniger stabil als der Ester. Sowohl in Lösungen über pH 8 als auch generell durch Wirkung von Esterasen erfolgt die Esterspaltung unter Bildung der freien Säure (B 837-21).

Wirkungsmechanismus: Der Wirkstoff liegt nach intravenöser oder oraler Verabreichung im Blut als freie Säure vor und unterliegt als artifizielle Fettsäure wahrscheinlich den gleichen Transport- und Metabolisierungsprozessen (z.B. Albumin-Bindung, intrazelluläre Veresterung mit CoA) wie alle anderen Fettsäuren. Etomoxir wirkt in Form des CoA als ein starker Inhibitor der mitochondrialen Carnitinpalmitoyltransferase I, die verantwortlich ist für den Transport der langkettigen Fettsäuren aus dem Zytosol zur β -Oxidation in die Mitochondrien der Leberzelle. Die Hemmung ist ein konzentrations- und zeitabhängiger Prozess, dessen molekularer Wirkungsmechanismus noch nicht aufgeklärt ist. In vivo besteht eine Abhängigkeit der Wirkung vom Fütterungszustand der Tiere. In Mitochondrien gefütterter Tiere ist die Hemmung etwa 30 % stärker ausgeprägt als bei nüchternen. Als Folge der Hemmung des Transports der langkettigen Fettsäuren durch die Mitochondrienmembran sind vor allem eingeschränkt:

Fettsäureoxidation, Ketogenese, Cholesterinsynthese, Glukonoogenese.

Das Präparat wurde bisher an Ratten und Meerschweinchen getestet. Bei hungernden Versuchstieren entwickelte sich eine dosisabhängige Hypoglykämie. Die Insulinsekretion blieb dabei unverändert. Zusätzlich stieg die Konzentration an freien Fettsäuren im Blut. Parallel dazu erhöhte sich der Blutgehalt an Triglyceriden und Lipoproteinen. Der Serumcholesterinspiegel sank erst relativ spät ab. Ausgeprägt waren die Veränderungen im Blutketonkörpergehalt: Der Spiegel des Azetazetats und der Hydroxybuttersäure sank stärker als bei allen anderen bisher geprüften antiketogenen Substanzen. Die Konzentration des Hydroxybutyrats verminderte sich am stärksten. Nach der intravenösen Verabreichung war die Wirkung von Etomoxir etwas stärker ausgeprägt als bei der oralen Applikation. Es bestanden jedoch keine gravierenden Wirkungsunterschiede. Die beschriebenen Veränderungen traten bei nicht hungernden Versuchstieren entweder gar nicht oder mit deutlich geringerer Intensität auf.

Ein Vergleich des Esters mit dem Natrium-Salz der Säure beweist eine Wirkungsäquivalenz beider Substanzen. Auch ein Wirkungsunterschied zwischen oraler und intravenöser Gabe ist nicht festzustellen. Die Hemmwirkung auf die β -Oxidation der Fettsäure ist sowohl bei einmaliger als auch bei mehrmaliger Applikation nachweisbar. Ein Toleranzphänomen bezüglich der Hauptwirkung ist nicht anzunehmen. Aus den Befunden an Ratte und Meerschweinchen läßt sich eine minimal-effektive Dosis von 1-5 mg pro kg KGW ableiten.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

METHODIK

U n t e r s u c h t e T i e r e

In der Zeit vom Oktober 1985 bis zum März 1986 wurden vierzehn Kühe der Rassen Deutsches Fleckvieh, Deutsche Schwarzbunte und Deutsches Braunvieh in die Untersuchungen einbezogen. Zwölf davon hatten ein bis sechs Wochen zuvor gekalbt. Zwei Kühe standen seit längerem trocken. Weitere Untersuchungen wurden an vier ein bis drei Wochen alten Kälbern (Deutsches Fleckvieh) durchgeführt. Die Tiere stammten aus dem Lehr- und Versuchsgut Oberschleißheim oder waren als Patienten in der II. Medizinischen Tierklinik der Universität München eingestellt. Tabelle 1 gibt Auskunft über Alter, Rasse und Milchleistung (bei der vorhergehenden Milchleistungskontrolle) der Kühe. Außerdem ist aufgelistet, wieviel Wochen seit der Geburt zu Beginn der Untersuchungen verstrichen waren.

Zu den Untersuchungen wurden teils gesunde Kühe herangezogen teils solche, die eine Ketonkörperkonzentration im Harn von ++ (5-10 mg/100 ml) und mehr (Ketur-Test[®], Boehringer Mannheim) aufwiesen. Dabei war es unwesentlich, ob eine primäre oder sekundäre Ketose vorlag. Bei den vier Kälbern, die in die Untersuchungen einbezogen wurden, bestand Verdacht auf Hypoglykämie.

Die Fütterung der erwachsenen Tiere bestand aus Heu guter Qualität ad libitum zuzüglich einer der jeweiligen Milchleistung angemessenen Menge an Kraftfutter. Den Kälbern wurde nach dem üblichen Tränkeplan dreimal am Tag Milch angeboten, darüberhinaus zweimal täglich Elektrolyttränke in Form von Ion-Aid[®] der Fa. Grüntex. Nahmen sie nichts zu sich, wurde am Versuchstag eine

Dauertropfinfusion mit 0.9prozentiger Kochsalzlösung
vorgenommen.

Tab. 1: Alter, Rasse, Milchleistung der Kühe pro Tag
sowie Zeitpunkt post partum zu Beginn der
Untersuchungen

Kuh	Alter (in Jahren)	Rasse	Milch- leistung in Liter	Wochen p.p.
1	4	DSB	31.1	1.5
2	2	DFV	25.0	1
3	2	DSB	31.1	4.5
4	2	DFV	10.0	5.5
5	4	DFV	/	/
6	11	DFV	/	/
7	2.75	DFV	20.0	3
8a	5	DSB	31.0	3
b	5	DSB	31.0	4.5
9	6	DSB	30.0	2
10	2.5	DFV	20.0	3
11	2	DSB	30.3	5
12	5	DSB	30.9	6
13	3	DBV	20.0	1
14	5	DFV	20.0	4

T e s t p r ä p a r a t

Geprüft wurde das Präparat Etomoxir in Form des Esters
B 807-54. Das Präparat wurde in entsprechender
galenischer Zubereitung zusammen mit dem Lösungsmittel
von der Firma Byk Gulden, Konstanz zur Verfügung
gestellt. Beim Lösungsmittel handelt es sich um reinen
Alkohol (Äthanol). Bei einem Kalb wurde das Na-Salz der
freien Säure (B 827-33) verwendet. Als Lösungsmittel
diente hier physiologische Kochsalzlösung.

Zur Prüfung der Dosisabhängigkeit der Wirkung wurden zwei Dosierungen gewählt: 5 mg/kg KGW und 10 mg/kg KGW, was einer Menge von 2,5 g pro Kuh bzw. 5 g pro Kuh entspricht. Die Substanz wurde jeweils in 10 ml Lösungsmittel gelöst und langsam intravenös verabreicht.

Bei den Kälbern wurde eine Dosis von 5 mg/kg KGW gewählt, d.h. 250 mg pro Kalb. Der Ester B 807-54 wurde in 5 ml Lösungsmittel intravenös gegeben, das Na-Salz der freien Säure wurde in 1 l 0.9prozentiger Kochsalzlösung gelöst und als Tropfinfusion verabreicht. Die Säure löste sich auch bei Erwärmung nicht vollständig in der physiologischen Kochsalzlösung.

A n o r d n u n g d e r U n t e r s u c h u n g e n

Voruntersuchungen

- Untersuchungen an gesunden Kühen zur Ermittlung von Referenzwerten

Um eigene Vergleichswerte zu erhalten, wurde bei vier klinisch gesunden Kühen im Zeitraum ein bis sechs Wochen nach der Geburt Blut entnommen und auf den Gehalt an Azetazetat, Hydroxybutyrat, Glukose, freien Fettsäuren, Triglyceriden und Cholesterin untersucht. Blut- und Harnproben wurden unmittelbar nach der Morgenfütterung sowie 2, 4 und 8 Stunden danach entnommen.

- Untersuchungen an gesunden Kühen zur Ermittlung der Verträglichkeit und Wirksamkeit des Testpräparates

Zwei klinisch gesunden, trockenstehenden Tieren wurden 2,5 g B 807-54 verabreicht. Blut- und Harnproben wurden

vor, sowie 2, 4, 8 und 24 Stunden nach der Verabreichung des Präparates entnommen. Die Kühe wurden vor der Applikation und 15, 30, 60 Minuten und 24 Stunden danach klinisch untersucht. Im einzelnen wurden folgende Befunde protokolliert: Haltung, Verhalten, Herzfrequenz, -Intensität, -Rhythmus, -Abgesetztheit und Nebengeräusche, die Füllung der Skleralgefäße, Farbe der Schleimhäute, Atemfrequenz, Atemtyp, Pansenmotorik.

Hauptuntersuchungen

- Testung des Präparates an Kühen mit Ketonurie

In diese Untersuchungen wurden Kühe einbezogen, die bei der Einlieferung in die II. Medizinische Tierklinik eine Ketonkörperkonzentration im Harn von ++ (40-100 mg/dl) und mehr (Ketur-Test[®], Boehringer Mannheim) hatten. Sie wurden alle bei der Einlieferung eingehend klinisch untersucht und die folgenden Blutbestandteile bestimmt: rotes und weißes Blutbild, der Gehalt des Blutserums an Gesamtbilirubin, Harnstoff, Gesamteiweiß, den Enzymen GOT, GGT, GLDH, CK und AP. Der Harn wurde mit Hilfe des Combur-8 Tests (Boehringer Mannheim) semiquantitativ auf die Gehalte an Nitrit, Eiweiß, Glukose, Ketonkörper, Urobilinogen, Bilirubin und Blut untersucht. Auch der pH des Harns wurde protokolliert. Die Tiere wurden in folgende Gruppen unterteilt:

- Gruppe a: Drei Kühe erhielten 2,5 g Etomoxir (B 807-54). Eine Kuh, bei der nach zwei Wochen nochmals Ketonkörper im Harn festgestellt wurden, erhielt nochmals 2,5 g B 807-54, d.h. das Präparat wurde viermal an drei Kühen in einer Dosierung von 5 mg/kg KGW angewandt.
- Gruppe b: Die höhere Dosierung, 10 mg/kg KGW, erhielten zwei Tiere.

- Kontrollgruppe: Bei drei Tieren wurde die übliche Therapie bei Ketose angewandt: 250 g Glukose, 250 g Fruktose (1000 ml Trafulon[®], Fa. Iffa-Merieux) als Tropfinfusion intravenös und 160 IE Insulin (Depot-Insulin Hoechst[®]). Zusätzlich erhielten sie morgens und abends 200 ml Propylenglykol (WDT) oral.

Blut- und Harnproben wurden unmittelbar vor, sowie 2, 4, 8 und 24 Stunden nach der Behandlung entnommen. Der Versuch begann jeweils nach der Morgenfütterung. Die Begleiterkrankungen wurden gesondert protokolliert und gegebenenfalls gezielte Therapiemaßnahmen durchgeführt.

- Testung des Präparates an Kälbern

Zusätzlich wurden Untersuchungen an vier, ein bis drei Wochen alten Kälbern durchgeführt, die an Enteritis catarrhalis acuta erkrankt waren. Drei Kälbern wurde die Dosis von 5 mg/kg KGW des Präparats B 807-54 intravenös verabreicht. Bei einem Kalb wurde das Na-Salz der freien Säure in gleicher Dosierung verwendet. Blut- und Harnproben wurden vor, sowie 2, 4, 8 und 24 Stunden nach Verabreichung des Präparates entnommen. Weitere Blutentnahmen zur Bestimmung der Glukose wurden 0.30, 1, 1.30 und 3 Stunden nach Applikation vorgenommen.

Tab. 2: Alter (in Tagen) und Rasse der Kälber

	Kalb Nr.			
	15	16	17	18
Alter	7	11	7	18
Rasse	DFV	DFV	DFV	DFV

Proben Gewinnung

Blutentnahme

Vor Beginn der Untersuchungen wurde den Tieren ein Katheter in die Vena jugularis eingeführt (Bard I-Cath, FA. Bard internat. limited). Über diesen Katheter erfolgte sowohl die intravenöse Verabreichung der jeweiligen Medikamente als auch die Blutentnahme. Bei der Entnahme des Blutes wurden die ersten 10 ml jeweils verworfen; nach der Blutentnahme wurde der Katheter mit physiologischer Kochsalzlösung gespült.

Die Blutproben wurden wie folgt aufgenommen: in je eine 20 ml Sicherheitsmonovette (Sarstedt), in ein 2 ml Röhrchen für die Glukosebestimmung, beschickt mit 2 mg Kaliumfluorid (Sarstedt), in ein 2 ml Röhrchen, beschichtet mit 3 mg EDTA (Sarstedt) und in eine 5 ml Einwegspritze (Pharma-Plast GMBH, Braunschweig).

Blutprobenaufbereitung

Die Sicherheitsmonovetten wurden zwei bis drei Stunden im Kühlschrank bei $+4^{\circ}\text{C}$ gelagert und danach zweimal zehn Minuten lang bei 2500 U/min zentrifugiert (Zentrifuge: Hettich/Rotixa). Jeweils 2 ml des Serums wurden bei -20°C eingefroren: zur Bestimmung der Gehalte an Triglyceriden und an Cholesterin einerseits und zur Untersuchung auf den Spiegel an freien Fettsäuren andererseits. Diese Messungen wurden nach Abschluß des Versuchs im Block durchgeführt.

Ein bis zwei Stunden nach der Entnahme wurde das Serum im 2 ml Röhrchen, das zur Messung des Glukosegehaltes bestimmt war, abzentrifugiert (3700 U/min, 10 min, Hettich Universal 2S) und 0.1 ml des Serums mit 1 ml 0.33 molarer Perchlorsäure enteiweißt. Der Überstand

wurde innerhalb von 24 Stunden zur Bestimmung der Glukose verwendet. Das EDTA Blut diente zur Glukose-Schnellbestimmung.

Jeweils 2 ml des Vollbluts in der Einwegspritze wurden sofort nach Blutentnahme in ein Zentrifugenglas verbracht, das mit 2 ml eiskalter 0.66 molarer Perchlorsäure zur sofortigen Enteiweißung beschickt war. Damit wird eine enzymatische Decarboxylierung von Azetazetat zu Azeton unterdrückt. Nach kräftigem Schütteln wurde das Gemisch 15 min bei 4100 U/min (Hettich Universal 2S) zentrifugiert, der Überstand abdekantiert und nochmals unter gleichen Bedingungen zentrifugiert. Dieser so gewonnene Überstand wurde bei -20°C eingefroren und innerhalb maximal 16 Stunden zur Bestimmung der Ketonkörper herangezogen.

Harngewinnung

Es wurde entweder provozierter oder mittels Katheter gewonnener Harn verwendet und sofort untersucht.

U n t e r s u c h u n g s t e c h n i k

Geprüfte Parameter

- Blutzucker:

Der Gehalt an Glukose im Serum wurde enzymatisch nach der Hexokinase-Methode bestimmt. Dafür steht eine standardisierte Testpackung mit Arbeitsanleitung der Fa. Boehringer Mannheim (Nr.124338) zur Verfügung. Zur Messung der Extinktion wurde ein Eppendorf Digitalphotometer 6114S mit angeschlossenen Eppendorf

Digitaldrucker 6522 verwendet. Die Messung erfolgte bei 334 nm.

- Triglyceride:

Die Methode der Bestimmung des Serumtriglyceridspiegels besteht in einer enzymatischen Spaltung der Triglyceride mit nachfolgender Bestimmung des entstandenen Glycerins (GPO-PAP-Methode). Dafür wurde die entsprechende Testpackung der Fa. Boehringer Mannheim verwendet (Nr.701882). Die Extinktion wird bei 546 nm gemessen.

- Cholesterin:

Auch für die Ermittlung des Cholesteringehaltes im Blutserum ist die Methode der Wahl ein enzymatischer Farbstest (CHOP-PAP-Methode, Testpackung Nr.290319, Fa. Boehringer Mannheim). Gemessen wird bei 546 nm.

- Ketonkörper im Blut:

Die genaueste Methode zur Bestimmung der beiden Ketonkörper Azetessigsäure und Hydroxybuttersäure im Blut beschrieben Williamson und Mellanby (1962). Die bis dahin gebräuchlichen Methoden waren rein chemischer Natur. Bergmeyer (1965) bewertet diese älteren Methoden als sehr arbeitsaufwendig, unspezifisch, oft nicht genügend genau und zu wenig empfindlich. Die der photometrischen Messung nach Williamson und Mellanby zugrunde liegende Reaktion lautet:



Diese Reaktion wird durch das Enzym D-3-Hydroxybutyrat-Dehydrogenase katalysiert. Bei pH 9.5 liegt das Gleichgewicht der Reaktion zu zirka 85 % auf der Seite von Azetazetat, bei pH 7.0 zu mehr als 98 % auf der Seite des Hydroxybutyrats (Bergmeyer, 1965).

Messung des Azetazetats: 1.8 ml des Überstands aus dem enteweißten Blut werden mit K_3PO_4 neutralisiert, bis ein pH von 6.8 bis 7.2 erreicht ist. Nach 20 Minuten im Eisbad wird das Kaliumperchlorat abzentrifugiert (2500 U/min, Hettich/Rotixa) und der Überstand zur Messung verwendet.

Bestimmungsansatz: 340 nm, Schichtdicke: 1 cm, Temperatur: 25°C.

Gemessen wird die Extinktionsabnahme von NADH. (Photometer: Beckmann DuR-30 Spectrophotometer). Sie entspricht der Oxidation von NADH und ist proportional der Azetazetatmenge.

Überstand	0.4 ml
Phosphatpuffer	0.14 ml
NADH-Lösung	0.01 ml

Der Vorlauf wird 5 Minuten lang gemessen und die Reaktion dann durch Zugabe von D-3-HBDH gestartet.

40 Minuten lang wurde jede Minute die genaue Extinktion registriert, der Reaktionsablauf wurde als Kurve in einem Koordinatensystem durch den angeschlossenen Plotter ausgedruckt. Die Extinktionsänderung ΔE wurde durch Extrapolation ermittelt.

Berechnet wird die Konzentration durch die Formel:

$$\text{AzAz (mmol/l)} = \frac{\Delta E}{e \cdot d} \times \frac{EV}{PV} \times 10 \times K1 \times K2$$

ΔE = Extinktionsänderung

EV = Endvolumen der Probe (0.56 ml)

PV = Anfangsvolumen der Probe (0.4 ml)

K1 = Korrekturfaktor für die Enteiweißung

K2 = Korrekturfaktor für die pH Einstellung

e = molarer Extinktionskoeffizient für NADH bei 340 nm (6300)

d = Schichtdicke

$$\text{AzAz mmol/l} = 0.222 \times \Delta E \times K1 \times K2$$

Richtigkeit und Präzision dieser Bestimmungsmethode: Es wurde einer Blutprobe Azetazetat zugesetzt und zu 99 $\pm$ 6.25 % (s) wiedergefunden. Der Variationskoeffizient ist VK = 6 % (Williamson und Mellanby, 1962).

Bestimmung der Hydroxybuttersäure: Der Überstand aus dem enteiweißten Blut wird mit K_3PO_4 auf pH 9.0 bis 9.5 eingestellt. Nach 20 Minuten im Eisbad wird Kaliumperchlorat abzentrifugiert und der Überstand zur Messung verwendet.

Bestimmungsansatz: 340 nm, Schichtdicke: 1 cm, Temperatur: 25°C.

Gemessen wird die Extinktionszunahme von NADH.

Überstand 0.3 ml

Glycinpuffer 0.24 ml

NAD-Lösung 0.04 ml

Der Vorlauf wird 5 Minuten lang gemessen. Die Reaktion wird durch Zugabe von 0.02 ml D-3-HBDH gestartet und 70 Minuten lang gemessen. ΔE wird durch Extrapolation ermittelt.

Die Rechnung erfolgt nach dem gleichen Schema wie bei Azetazetat.

$$\text{HBS (mmol/l)} = 0.317 \times \Delta E \times K_1 \times K_2$$

Richtigkeit und Präzision: Einer Blutprobe zugesetztes Hydroxybutyrat wurde zu $104 \pm 5.75 \%$ (s) wiedergefunden. Der Variationskoeffizient betrug $V_k = 5 \%$ (Williamson und Mellanby, 1962).

Das Enzym D-3-Hydroxybutyratdehydrogenase sowie NAD und NADH wurden von der Fa. Sigma (Nr. H-513), Fa. Merck (Nr. 24542) und Fa. Boehringer Mannheim (Nr. 127345) bezogen. Die anderen Lösungen wurden nach Arbeitsanleitungen von Bergmeyer (1974) und Richterich/Colombo (1978) hergestellt.

- Ketonkörper im Harn:

Zur semiquantitativen Bestimmung der Ketonkörper im Harn wurden Teststreifen der Fa. Boehringer Mannheim, (Ketur-Test[®]) verwendet. Der Test beruht darauf, daß Azeton und Azetazetat mit Nitroprussidnatrium und Glycin im alkalischen Milieu zu einem violetten Farbkomplex umgewandelt werden. Der Teststreifen ist besonders empfindlich für Azetazetat, die Empfindlichkeit für Azeton ist geringer. Die Nachweisgrenze liegt bei 5-10 mg Azetazetat bzw. 40-70 mg Azeton pro 100 ml Harn. Hydroxybuttersäure wird nicht erfaßt. Eine semiquantitative Bestimmung wird möglich, wenn der Test bei steigender Harnverdünnung mit Wasser durchgeführt wird (1:10, 1:20, 1:30 usw.).

Der Ketonkörpergehalt im Harn wurde auch mit dem "Denco-Pulver" nachgewiesen, das auf demselben Prinzip wie der Teststreifen beruht.

- Freie Fettsäuren:

Die Messung der Konzentration der freien Fettsäuren wurde freundlicherweise vom Labor der Fa. Byk Gulden, Konstanz, nach der Methode von Duncombe (1964) durchgeführt. Der Vorteil zur titrimetrischen Methode nach Dole und Meinertz (1960) besteht darin, daß die Extraktion der Lipide nicht notwendig ist.

Das Prinzip der Messung besteht darin, mittels Chloroform und dem "copper Reagent" (neun Volumen einer wässrigen 1M Triäthanolaminlösung, ein Volumen einer 1N Essigsäurelösung und zehn Volumen einer 6.45 % $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ -Lösung) durch Zentrifugation die wässrige von der fettlöslichen Phase des Plasmas zu trennen. Der fettlöslichen Phase wird Diaethyldithiocarbamat-Reagenz hinzugefügt. Die Extinktion dieser Lösung wird bei 440 nm gegen einen Leerwert gemessen. Anhand einer Eichkurve wird die Konzentration der freien Fettsäuren im Chloroformgemisch abgelesen. Der Gehalt im Plasma ist zehnmal so hoch.

ERGEBNISSE

V o r u n t e r s u c h u n g e n

Untersuchungen an gesunden Kühen zur Ermittlung von Referenzwerten

Die Messungen wurden an vier klinisch gesunden Kühen am 28. November und am 10., 12. und 16. Dezember 1985 durchgeführt und folgende Referenzwerte ermittelt. Für den Azetazetatgehalt im Blut ergab sich ein Mittelwert von $\bar{x} = 0.027$ mmol/l ($s = 0.006$), für die Hydroxybuttersäure lag $\bar{x}$ bei 0.292 mmol/l ($s = 0.062$), für die Glukose bei 76.85 mg/dl ($s = 5.77$), für die freien Fettsäuren bei 0.565 mmol/l ($s = 0.313$), für die Triglyceride bei 9.10 mg/dl ($s = 3.10$) und für das Cholesterin bei 76.77 mg/dl ($s = 10.23$). Tageszeitliche Schwankungen sind in Tabelle 3-8 registriert.

Im Harn dieser Kühe konnten keine Ketonkörperkonzentrationen festgestellt werden, die über der Empfindlichkeitsgrenze des Teststreifens lagen. Auch sonst wurden keine auffälligen Befunde ermittelt.

Tab. 3: Azetazetatgehalt in mmol/l im Blut von gesunden Kühen

Kuh Nr.	Std. 0	Std. 2	Std. 4	Std. 8
1	0.024	0.032	0.039	0.043
2	0.023	0.023	0.036	0.052
3	0.025	0.019	0.030	0.028
4	0.036	0.025	0.017	0.016
$\bar{x}$	0.027	0.025	0.030	0.035
s	0.006	0.005	0.010	0.016

Tab. 4: Hydroxybutyratgehalt in mmol/l im Blut von gesunden Kühen

Kuh Nr.	Std. 0	Std. 2	Std. 4	Std. 8
1	0.322	0.344	0.382	0.376
2	0.321	0.381	0.374	0.383
3	0.199	0.220	0.290	0.330
4	0.325	0.200	0.175	0.200
$\bar{x}$	0.292	0.286	0.305	0.322
s	0.062	0.090	0.096	0.085

Tab. 5: Glukosegehalt in mg/dl im Serum von gesunden Kühen

Kuh Nr.	Std. 0	Std. 2	Std. 4	Std. 8
1	67.83	67.35	69.20	65.99
2	61.31	66.46	63.65	63.65
3	75.35	71.14	74.41	80.96
4	66.92	67.39	98.28	89.85
$\bar{x}$	67.85	68.08	76.38	75.11
s	5.77	2.08	15.24	12.46

Tab. 6: Gehalt an freien Fettsäuren in mmol/l im Serum von gesunden Kühen

Kuh Nr.	Std. 0	Std. 2	Std. 4	Std. 8
1	0.991	0.882	1.405	1.034
2	0.603	0.839	0.787	0.871
3	0.382	0.440	0.428	0.365
4	0.284	0.149	0.132	0.155
$\bar{x}$	0.565	0.577	0.688	0.606
s	0.313	0.348	0.548	0.414

Tab. 7: Triglyceridgehalt in mg/dl im Serum von gesunden Kühen

Kuh Nr.	Std. 0	Std. 2	Std. 4	Std. 8
1	13.52	11.44	-	12.48
2	8.32	13.52	18.72	8.32
3	8.32	10.40	8.32	7.28
4	6.24	1.04	7.28	6.24
$\bar{x}$	9.10	9.10	11.44	8.58
s	3.10	5.53	6.33	2.73

Tab. 8 Cholesteringehalt in mg/dl im Serum von gesunden Kühen

Kuh Nr.	Std. 0	Std. 2	Std. 4	Std. 8
1	85.30	53.00	-	89.56
2	64.83	67.39	65.68	66.53
3	85.30	105.70	109.20	104.90
4	71.65	74.21	82.74	94.68
$\bar{x}$	76.77	75.08	85.87	88.92
s	10.23	22.25	21.93	16.23

Untersuchungen an gesunden Kühen zur Prüfung der Verträglichkeit und Wirksamkeit des Präparates

Die Untersuchungen wurden an zwei klinisch gesunden, trockenstehenden Kühen am 9.1.1986 durchgeführt.

Befunde der Laboruntersuchungen: In den Konzentrationen von Azetazetat und Hydroxybutyrat im Blut und den Serumgehalten an freien Fettsäuren, Triglyceriden und Cholesterin traten nach Verabreichung des Präparates keine Veränderungen auf. Die Glukosekonzentration im

Blutserum hatte sich bei beiden Tieren schon zwei Stunden nach Verabreichung von Etomoxir deutlich erhöht. bei einer Kuh blieb der Serumgehalt auf demselben Niveau, bei der anderen stieg er bis zur vierten Stunde weiter an. Nach acht Stunden war bei beiden ein Abfall der Glukosegehalte unter die Konzentration zur vierten Stunde zu registrieren. Die beobachtete Steigerung der Konzentration belief sich auf 17.17 % bzw 34.16 % des Ausgangsgehaltes. Vierundzwanzig Stunden nach Applikation des Präparates waren die Ausgangswerte wieder erreicht (Tab. 9).

Bei der Harnuntersuchung wurden keine pathologischen Befunde erhoben.

Klinische Befunde: Bei den klinischen Kontrollen fielen keine Abweichungen auf. Beide Kühe verhielten sich im Untersuchungszeitraum aufmerksam, die Herzfrequenz blieb konstant, die Herzauskultation ergab keine pathologischen Befunde. Die Atmung war zu jeder Zeit ruhig und gleichmäßig, der Pansen arbeitete normal. Hinsichtlich der Futteraufnahme zeigten sich keine Besonderheiten.

Tab. 9: Verlauf der Blut- bzw. Serumkonzentrationen von Azetazetat (Azaz.), Hydroxybutyrat (HBS), Glukose, freien Fettsäuren (FFS), Triglyceriden (Trig.) und Cholesterin (Chol.) bei zwei Kühen nach der intravenösen Verabreichung von 2,5 g Etomoxir pro Tier

Parameter	Kuh Nr.	Std. 0	Std. 2	Std. 4	Std. 8	Std. 24
Azaz. (mmol/l)	5	0.036	0.021	0.030	0.042	0.037
	6	0.032	0.039	0.031	0.027	0.021
HBS (mmol/l)	5	0.264	0.324	0.234	0.426	0.171
	6	0.272	0.270	0.318	0.195	0.354
Glukose (mg/dl)	5	62.71	73.48	73.48	49.60	63.64
	6	57.56	74.41	77.22	65.52	65.99
FFS (mmol/l)	5	0.147	0.272	0.226	0.260	0.116
	6	0.223	0.147	0.293	0.208	0.128
Trig. (mg/dl)	5	14.56	19.86	10.40	21.84	11.44
	6	20.80	8.32	31.20	14.56	16.64
Chol. (mg/dl)	5	118.57	71.65	95.54	135.48	121.13
	6	81.03	105.77	73.36	75.92	75.06

Hauptuntersuchungen

Behandlungsergebnisse bei erwachsenen Rindern mit Ketonurie

Es wurden neun Versuche an acht Kühen mit Ketonurie durchgeführt. Eine Kuh bekam das Präparat Etomoxir zweimal im Abstand von 13 Tagen verabreicht. Der mittlere Serumgehalt der geprüften Parameter vor Applikation des Präparates betrug für Azetazetat im Blut $\bar{x} = 0.507$ mmol/l ($s = 0.43$), für Hydroxybutyrat im Blut $\bar{x} = 2.161$ mmol/l ($s = 2.05$), für Glukose im Serum $\bar{x} = 45.30$ mg/dl ($s = 11.17$), für die freien Fettsäuren im Serum $\bar{x} = 0.997$ mmol/l ($s = 0.65$), für die Triglyceride im Serum $\bar{x} = 9.36$ mg/dl ($s = 6.15$) und für das Cholesterin im Serum $\bar{x} = 96.67$ mg/dl ($s = 45.98$).

Die Reaktion des Teststreifens (Ketur-Test[®], Boehringer Mannheim) auf die Ketonkörperkonzentration im Harn, die Begleiterkrankungen und die zusätzlichen Therapiemaßnahmen am Tag der Behandlung bei den Kühen mit Ketonurie sind in Tabelle 10 aufgeführt.

Tab. 10: Ketonkörpertest, Blutbefunde, Begleiterkrankung sowie zusätzliche Therapie am Versuchstag bei acht Kühen mit Ketonurie

Kuh Nr.	Ketonkörper- test/Harn	Blutbefunde	Begleit erkrank.	zusätzl. Therapie am Versuchstag
7	+++ 1:40 neg.	GB 1.87 mg/dl GOT 69 U/l GLDH 46 U/l	-	-
8 a	++	GOT 57.9 U/l GLDH 21.9 U/l	-	-
b	+++ 1:40 neg.	GOT 83.8 U/l GLDH 68.2 U/l GGT 50.9 U/l	-	-
9	++	GB 0.62 mg/dl GLDH 14.5 U/l GGT 25.8 U/l	Ballen- horn- fäule	Klauen- verband
10	++	GB 1.49 mg/dl GOT 88.7 U/l GLDH 19.9 U/l GGT 26.3 U/l	Poly- synovitis	10 Mio. IE Penic. Na-Salicylat Finalgon
11	+++ 1:40 neg.	GB 0.36 mg/dl GLDH 36.6 U/l	-	-
12	++	GOT 93 U/l GLDH 66 U/l GGT 95 U/l	-	-
13	++	GB 0.60 mg/dl GOT 100 U/l	Pododerm.	Klauen- verband
14	+++ 1:50 neg.	GB 1.39 mg/dl GOT 11207 U/l GLDH 49.9 U/l GGT 29.6 U/l	Disloc. abomasi sinistra	Operation 12 Mio. IE Penic.

GB: Serumkonzentration des Gesamtbilirubins

GOT: Glutamat-Oxalazetat-Transaminase

GLDH: Glutamat-Dehydrogenase

GGT: γ -Glutamyl-Transpeptidase

+ : 5-10 mg/100 ml Azetessigsäure

++ : 40-100 mg/100 ml Azetessigsäure

+++ : mehr als 100 mg/100 ml Azetessigsäure

- Behandlungsergebnisse bei der intravenösen
Verabreichung von 2,5 g Etomoxir pro Tier an drei
Kühe mit Ketonurie

Die Versuche wurden am 16.12.1985 und am 15.1., 28.1.
und 12.2.1986 an den Kühen Nr. 7, 8 und 9 durchgeführt.
Kuh Nr. 8 erhielt zweimal, am 15. und am 28. Januar,
2,5 g Etomoxir intravenös.

Befunde der Laboruntersuchungen: Die
Azetazetatkonzentration im Blut war bei allen Tieren
schon nach zwei Stunden deutlich abgesunken und nahm bis
zur vierten bzw. achten Stunde weiter ab. Die Reduktion
bewegte sich zwischen 67.51 % und 83.20 % im Vergleich
zum Gehalt vor der Verabreichung von Etomoxir.
Physiologische Werte wurden jedoch nur in den Fällen
erreicht, in denen die Ausgangskonzentrationen nur mäßig
über dem Normbereich lagen. Der Azetazetatgehalt
vierundzwanzig Stunden post applicationem lag bei hohen
Ausgangskonzentrationen deutlich niedriger, bei weniger
hohen Anfangsgehalten jedoch gleich hoch oder
geringgradig höher als diese.

Die Hydroxybutyratkonzentration im Blut verhielt sich
analog dem Azetazetatgehalt. Auch der
Hydroxybutyratspiegel hatte schon zwei Stunden post
applicationem deutlich abgenommen. Das
Konzentrationsminimum wurde in der vierten bis achten
Stunde nach der Behandlung gemessen. Im Vergleich zum
Ausgangsgehalt erniedrigte sich der
Hydroxybutyratspiegel prozentual jedoch nicht so stark
wie die Azetazetatkonzentration. Die prozentuale
Erniedrigung des Hydroxybutyratgehaltes lag zwischen
49.46 % und 66.32 % des Anfangsgehaltes. Physiologische
Konzentrationen wurden wiederum bei nur mäßig über dem
Normbereich liegenden Ausgangsgehalten erreicht.
Vierundzwanzig Stunden nach Applikation von Etomoxir
waren die Konzentrationen an Hydroxybutyrat im Blut
wieder bis auf die Ausgangsgehalte gestiegen, bei zwei

Kühen auch leicht darüber.

Während die Ketonkörperkonzentration im Blut abnahm, stieg die Konzentration der Glukose im Serum bis zur achten Stunde nach der Behandlung um durchschnittlich 44.61 % (s = 27.47) bezogen auf den Ausgangsgehalt. Bei Kuh Nr. 8a war eine Zunahme nur bis zur vierten Stunde zu registrieren. Am Morgen nach der Behandlung war der Glukosespiegel wieder auf die Anfangswerte abgesunken.

Sehr deutlich stieg der Gehalt an freien Fettsäuren im Blutserum. Die Konzentrationszunahme bewegte sich zwischen 208.68 % und 1698.95 % des jeweiligen Ausgangswertes. Die Konzentrationen stiegen bis zur achten Stunde an und sanken dann wieder. Eine Ausnahme ist hier die Kuh Nr. 9, bei der der höchste Wert erst nach vierundzwanzig Stunden ermittelt wurde. Zu diesem Zeitpunkt war bei keiner Kuh die Ausgangssituation wieder erreicht.

Auch der Gehalt an Triglyceriden im Blutserum erhöhte sich nach der Behandlung mit Etomoxir, und zwar um 200 % bis 666.7 % des Ausgangsgehaltes. Eine geringere Steigerung, nämlich von 55.55 %, wurde bei Kuh Nr. 7 gemessen. Die Konzentrationsmaxima an Triglyceriden waren bei zwei Kühen erst nach vierundzwanzig Stunden erreicht, bei den zwei weiteren schon nach vier Stunden, wobei der Spiegel dann bei diesen Tieren auf dem hohen Niveau blieb.

Der Cholesteringehalt im Blutserum schwankte nach der Behandlung mit Etomoxir, zeigte jedoch weder eine deutliche Steigerung noch Reduktion.

Die Konzentration der Ketonkörper im Harn nahm analog der Konzentration im Blut ab. War bei Kuh Nr. 7 und 8a zu Beginn eine Ketonkörperkonzentration im Harn von +++ (siehe Seite 38) ermittelt worden, war diese nach zwei Stunden auf +(+) (1:20) abgefallen. Am nächsten Morgen war die Reaktion bei Kuh Nr. 7 wieder +++, bei Kuh

Nr. 8a nur +. Bei den anderen beiden Kühen, mit Ausgangsreaktionen von ++, waren nach vier Stunden keine Ketonkörper mehr nachweisbar. Vierundzwanzig Stunden nach Versuchsbeginn zeigte der Teststreifen bei beiden (+) an. Andere pathologische Befunde wurden bei der Harnuntersuchung nicht erhoben.

Tab. 11: Verlauf der Blut-Azetazetatgehalte in mmol/l bei Kühen mit Ketonurie nach intravenöser Verabreichung von 2,5 g Etomoxir pro Tier

Kuh Nr.	Std. 0	Std. 2	Std. 4	Std. 8	Std. 24
7	1.135	0.335	0.193	0.213	0.599
8a	0.187	0.082	0.051	0.062	0.240
8b	0.435	0.170	0.163	0.142	0.290
9	0.095	0.030	0.033	0.050	0.099
$\bar{x}$	0.463	0.154	0.110	0.117	0.307
s	0.470	0.134	0.080	0.076	0.211

Tab. 12: Verlauf der Blut-Hydroxybutyratgehalte in mmol/l bei Kühen mit Ketonurie nach intravenöser Verabreichung von 2,5 g Etomoxir pro Tier

Kuh Nr.	Std. 0	Std. 2	Std. 4	Std. 8	Std. 24
7	1.466	1.409	0.743	0.741	2.770
8a	0.926	0.514	0.415	0.581	0.885
8b	2.690	1.729	1.494	0.906	1.699
9	0.693	0.300	0.282	0.280	0.730
$\bar{x}$	1.444	0.988	0.733	0.627	1.521
s	0.892	0.690	0.543	0.267	0.935

Tab. 13: Verlauf der Serum-Glukosegehalte in mg/dl bei Kühen mit Ketonurie nach intravenöser Verabreichung von 2,5 g Etomoxir pro Tier

Kuh Nr.	Std. 0	Std. 2	Std. 4	Std. 8	Std.24
7	33.23	34.16	37.91	38.38	26.21
8a	37.44	57.10	66.92	63.65	44.46
8b	34.16	38.84	53.82	56.16	44.46
9	54.29	57.10	65.05	62.24	43.52
$\bar{x}$	39.78	48.79	53.94	55.11	39.66
s	9.84	14.68	12.05	11.61	8.98

Tab. 14: Verlauf der Serumgehalte an freien Fettsäuren in mmol/l bei Kühen mit Ketonurie nach intravenöser Verabreichung von 2,5 g Etomoxir pro Tier

Kuh Nr.	Std. 0	Std. 2	Std. 4	Std. 8	Std.24
7	1.032	2.408	2.766	3.594	1.775
8a	0.191	0.615	2.593	3.436	0.267
8b	0.513	0.584	1.091	2.961	1.880
9	0.875	1.526	2.008	1.149	2.701
$\bar{x}$	0.653	1.283	2.114	2.785	1.656
s	0.377	0.868	0.755	1.123	1.014

Tab. 15: Verlauf der Serum-Triglyceridgehalte in mg/dl bei Kühen mit Ketonurie nach intravenöser Verabreichung von 2,5 g Etomoxir pro Tier

Kuh Nr.	Std. 0	Std. 2	Std. 4	Std. 8	Std.24
7	9.36	8.32	13.52	11.44	14.56
8a	3.12	13.52	23.92	21.84	8.32
8b	2.08	8.32	14.56	11.44	13.52
9	9.36	15.60	17.58	10.40	28.08
$\bar{x}$	5.98	11.44	17.39	13.78	16.12
s	3.93	3.70	4.68	5.39	8.43

Tab. 16: Verlauf der Serum-Cholesteringehalte in mg/dl bei Kühen mit Ketonurie nach intravenöser Verabreichung von 2,5 g Etomoxir pro Tier

Kuh Nr.	Std. 0	Std. 2	Std. 4	Std. 8	Std. 24
7	104.06	72.50	95.54	61.42	82.74
8a	68.24	89.56	133.07	113.45	66.53
8b	131.36	124.54	139.89	130.51	156.95
9	83.59	84.45	82.74	76.77	87.01
$\bar{x}$	96.81	92.76	112.81	95.53	98.31
s	27.31	22.36	27.96	31.94	40.08

Hervorzuheben ist, daß die Behandlung mit Etomoxir in einer Dosierung von 2,5 g pro Tier bei den drei Kühen mit Ketonurie eine deutliche Erniedrigung der Konzentration der beiden Ketonkörper im Blut und eine Zunahme des Serum-Glukosegehaltes sowie des Serumspiegels der freien Fettsäuren zur Folge hat. Auch die Serumkonzentration der Triglyceride nahm zu, ein Einfluß auf den Serum-Cholesteringehalt konnte nicht nachgewiesen werden.

Klinische Befunde: Nach Verabreichung von Etomoxir an die Kühe Nr. 7 und 8a verhielten sich die Tiere klinisch völlig unauffällig. Am 28. Januar, bei der zweiten Gabe von 2,5 g Etomoxir, fiel das Tier Nr. 8b sofort nach Beendigung der intravenösen Verabreichung schockartig um. Es blieb reglos am Boden liegen. Während dieses Anfalles blieb die Herzfrequenz konstant bei 100 Schlägen pro Minute. Das Herz schlug dumpf aber regelmäßig, die Töne waren gut abgesetzt. Auch die Atmung blieb ruhig und regelmäßig. Fünf Minuten nach dem schockartigen Umfallen stand das Tier selbständig wieder auf. Es wurde den ganzen Tag über in regelmäßigen Abständen klinisch untersucht; es ergaben sich keine Veränderungen zu den Befunden vor dem Anfall. Das Tier nahm jedoch im Beobachtungszeitraum kaum Futter zu sich; am nächsten Morgen zeigte es etwas mehr Appetit. Die

Milchmenge blieb am Abend des Versuchstages um ein Drittel hinter der erwarteten Menge von 15 l zurück. Vierundzwanzig Stunden nach Verabreichung des Präparates war die Milchleistung fast wieder wie zuvor.

Auch das Tier Nr. 9 stürzte unmittelbar nach der -erstmaligen- Gabe von Etomoxir schockartig um, blieb in Seitenlage liegen und ruderte mit den Beinen. Es zeigte Maulatmung und expiratorisches Stöhnen. Da die Herzfrequenz auf 40 Schläge in der Minute verlangsamt war, wurden zwei Minuten nach dem Anfall 10 ml Effortil[®] intravenös gespritzt. Daraufhin schnellte die Herzfrequenz auf 220 Schläge pro Minute und verlangsamte sich dann innerhalb von sieben Minuten auf 80/min. Die Atemfrequenz war währenddessen immer deutlich erhöht. Eine Stunde nach Applikation des Präparates lag die Herzfrequenz bei 128 Schlägen pro Minute, die Herzschläge waren pochend, die Atemfrequenz betrug 44 in der Minute. Die klinischen Befunde normalisierten sich im Laufe des Tages, am nächsten Morgen wurde eine Herzfrequenz von 72 Schlägen pro Minute und eine Atemfrequenz von 38 pro Minute ermittelt. Das Herz schlug dumpf, die Atmung war regelmäßig. Den ganzen Tag nach Verabreichung von Etomoxir und auch noch am nächsten Morgen fraß die Kuh nichts. Die Milchleistung nahm nur geringfügig ab.

Tab. 17: Veränderung der Blut- bzw. Serumkonzentrationen von Azetazetat (Azaz.), Hydroxybutyrat (HBS), Glukose, den freien Fettsäuren (FFS), den Triglyceriden (Trig.) und Cholesterin (Chol) bei drei Kühen mit Ketonurie nach intravenöser Verabreichung von 2,5 g Etomoxir pro Tier (Veränderung in Prozent des Ausgangsgehaltes)

Kuh Nr.	Veränderung in Prozent					
	Azaz.	HBS	Glukose	FFS	Trig.	Chol.
7	-83.00	-49.46	+15.50	+ 248.25	+ 55.55	-
8a	-72.73	-55.18	+78.73	+1698.95	+666.66	-
8b	-67.51	-66.32	+64.40	+ 477.19	+600.00	-
9	-68.42	-59.60	+19.82	+ 208.68	+200.00	-

- Behandlungsergebnisse bei der intravenösen Verabreichung von 5,0 g Etomoxir pro Tier an zwei Kühe mit Ketonurie

Am 16. und 22. Januar 1986 wurden den Kühen Nr. 10 und 11 jeweils 5 g Etomoxir (gelöst in 10 ml Lösungsmittel) langsam intravenös verabreicht.

Befunde der Laboruntersuchungen: Die Azetazetatkonzentrationen im Blut fielen bis zur achten Stunde um 96.95 % bzw. 93.52 % des Ausgangsgehaltes ab. Bei beiden Kühen wurden unabhängig vom Anfangsgehalt physiologische Konzentrationen erreicht. Am Morgen nach der Behandlung mit Etomoxir waren die Konzentrationen wieder leicht angestiegen, lagen jedoch deutlich unter den Werten zur Stunde 0.

Die Konzentrationen von Hydroxybutyrat im Blut zeigten ein vergleichbar starkes Absinken, und zwar um 94.24 % bzw. 93.6 % der Ausgangsgehalte. Acht Stunden nach der Behandlung war das Konzentrationsminimum erreicht. Die Hydroxybutyratgehalte waren bei beiden Kühen bis in den Normbereich gesunken. Der Hydroxybutyratspiegel lag bei Kuh Nr. 10 acht Stunden nach der Behandlung sogar etwas darunter. Auch noch vierundzwanzig Stunden post applicationem lagen die Hydroxybutyratgehalte bei beiden Kühen noch im physiologischen Bereich.

Die Serumgehalte an Glukose lagen bei beiden Tieren zwei Stunden nach der Behandlung mit Etomoxir geringgradig unter der Ausgangskonzentration. Nach vier Stunden war jedoch ein Anstieg der Konzentrationen festzustellen, der sich bis zur achten Stunde nach Applikation fortsetzte. Prozentual belief sich die Erhöhung des Blutzuckerspiegels auf 35.93 % bzw. auf 132.70 % der Ausgangsgehalte. Am Morgen nach Verabreichung des Präparates waren die Glukosegehalte beider Tiere wieder gesunken und lagen im physiologischen Bereich.

Die Konzentration der freien Fettsäuren im Serum nahm bei Kuh Nr. 10 bis zur vierten Stunde nach der Behandlung mit Etomoxir um 49.14 % im Vergleich zur Ausgangskonzentration zu. Der Gehalt lag jedoch schon zu Versuchsbeginn hoch (1.577 mmol/l). Nach vierundzwanzig Stunden wurden nur noch 0.902 mmol/l gemessen. Bei Kuh Nr. 11 erhöhte sich der Blutspiegel der freien Fettsäuren bis zur achten Stunde nach der Behandlung um 438.88 % des Ausgangsgehaltes. Der Anfangswert war weit niedriger als bei Tier Nr. 10, das Konzentrationsmaximum lag jedoch höher.

Die Triglyceridkonzentration im Serum erhöhte sich bei dem Tier Nr. 11 bis zur achten Stunde nach Applikation des Präparates. Die Erhöhung belief sich auf 88.89 % des Anfangsgehaltes. Vierundzwanzig Stunden nach der Behandlung lag die Serumkonzentration wieder im Normbereich. Der Gehalt an Triglyceriden im Blutserum der Kuh Nr. 10 schwankte nach der Verabreichung von Etomoxir leicht um den Ausgangswert.

Auffällige Abweichungen von der Norm im Verlauf des Serum-Cholesterinspiegels traten nach der Behandlung mit Etomoxir nicht auf.

Die Konzentration der Ketonkörper im Harn, die anfangs bei Kuh Nr. 10 bei ++ (1:20 = 0 ; siehe Seite 38) lag, verringerte sich so weit, daß bei den Untersuchungen zur Stunde 8 und 24 auch im unverdünnten Harn keine Ketonkörper mehr nachweisbar waren. — Weitere pathologische Befunde in Bezug auf den Harn wurden nicht erhoben.

Der Gehalt an Ketonkörpern im Harn von Kuh Nr. 11 verringerte sich im Beobachtungszeitraum kontinuierlich. Anfangs waren bei der semiquantitativen Untersuchung des Harns bei einer Verdünnung von 1:40 keine Ketonkörper mehr nachweisbar. Zwei Stunden nach der Behandlung konnten in der Verdünnung von 1:20 keine Ketonkörper mehr nachgewiesen werden. Nach vier Stunden war die

Reaktion des Teststreifens bei der Verdünnung von 1:10 negativ. Am Morgen nach Verabreichung des Präparates wurde im unverdünnten Harn eine Konzentration von + (5-40 mg/dl) gemessen. Darüberhinaus war eine deutliche Glukosurie von +++ (etwa 1000 mg/dl) vierundzwanzig Stunden post applicationem festzustellen.

Tab. 18: Verlauf der Blut- bzw. Serumkonzentrationen von Azetazetat (Azaz.), Hydroxybutyrat (HBS), Glukose, freien Fettsäuren (FFS), Triglyceriden (Trig.) und Cholesterin (Chol) bei zwei Kühen mit Ketonurie nach intravenöser Verabreichung von 5 g Etomoxir pro Tier

Parameter	Kuh Nr.	Std. 0	Std. 2	Std. 4	Std. 8	Std. 24
Azaz. mmol/l	10	0.386	0.055	0.034	0.025	0.031
	11	1.050	0.493	0.281	0.032	0.067
HBS mmol/l	10	1.406	0.399	0.218	0.090	0.220
	11	7.000	3.523	1.960	0.403	0.540
Glucose mg/dl	10	48.20	44.92	56.63	65.52	55.70
	11	47.27	44.93	47.67	110.00	68.33
FFS mmol/l	10	1.577	2.121	2.354	2.122	0.906
	11	0.967	3.835	5.201	5.211	2.619
Tri. mg/dl	10	19.76	16.64	19.76	21.84	-
	11	18.72	29.12	28.08	35.36	14.56
Chol. mg/dl	10	26.44	32.41	32.41	34.97	-
	11	168.04	185.10	171.45	168.89	31.56

Die Veränderungen im Verlauf der Blutkonzentrationen von Azetazetat und Hydroxybutyrat und den Serumgehalten der Glukose, der freien Fettsäuren, der Triglyceride und des Cholesterins nach der Behandlung mit 5,0 g Etomoxir pro

Tier entsprechen den Behandlungsergebnissen bei Verabreichung von 2,5 g pro Tier. Die Erniedrigung der Ketonkörperkonzentration war bei der höheren Dosierung jedoch ausgeprägter.

Klinische Befunde: Nach der Applikation von Etomoxir verhielten sich die Tiere zusehends somnolent. Die Futteraufnahme war bis zum darauffolgenden Morgen schlecht. Die Milchleistung lag niedriger als erwartet. Pathologische Befunde wurden bei klinischen Kontrollen des Kreislaufsystems und des Atmungsapparates nicht erhoben. Am Tag nach der Behandlung wurde das Verhalten der beiden Tiere wieder aufmerksam. Die Futteraufnahme stabilisierte sich, die Milchleistung war wieder wie zuvor.

Tab. 19: Veränderung der Blut- bzw. Serumkonzentrationen von Azetazetat (Azaz.), Hydroxybutyrat (HBS), Glukose, freien Fettsäuren (FFS), Triglyceriden (Trig.) und Cholesterin (Chol.) bei zwei Kühen mit Ketonurie nach der intravenösen Verabreichung von 5,0 g Etomoxir pro Tier (Veränderung in Prozent der Ausgangsgehalte)

Kuh Nr.	Veränderung in Prozent					
	Azaz.	HBS	Glukose	FFS	Trig.	Chol.
10	-93.52	-93.60	+ 35.93	+438.88	+10.52	-
11	-96.95	-94.24	+132.70	+ 49.14	+88.89	-

- Behandlungsergebnisse bei der Anwendung der
Standardtherapie an Kühen mit Ketonurie

Um die Konzentrationsänderungen der geprüften Blutparameter nach der Behandlung mit Etomoxir mit der herkömmlichen Therapie vergleichen zu können, wurde am 4.2., 19.2. und am 4.3.1986 den Kühen Nr. 12, 13 und 14 eine intravenöse Infusion von 250 g Glukose und 250 g Fruktose mit gleichzeitiger intramuskulärer Injektion von 160 IE Insulin verabreicht. Die Infusion dauerte eine Stunde. Zusätzlich wurde am Tag der Untersuchungen auch zweimal 200 ml Propylenglykol oral gegeben.

Befunde der Laboruntersuchungen: Die Blutkonzentrationen an Azetazetat waren bei allen Tieren schon zwei Stunden post applicationem gesunken, bei zwei Tieren nahm der Wert bis zur vierten Stunde nach Infusionsende weiter ab. Nach vier bzw. acht Stunden stieg der Azetazetatspiegel dann kontinuierlich wieder an, nach vierundzwanzig Stunden lagen die Blutgehalte jedoch immer noch unter den Ausgangswerten. Zwei Tiere litten an leichter Ketose, bei ihnen sanken die Blutkonzentrationen durch die Behandlung bis auf physiologische Werte ab. Bei starker Ketose lagen die Gehalte an Azetazetat im Blut immer über dem Normalbereich. Die Konzentrationen an Azetazetat erniedrigten sich um 85.51 %, 68.42 % bzw. 78.08 % bezogen auf die Ausgangsgehalte.

Der Hydroxybuttersäurespiegel im Blut stieg bei Kuh Nr. 12 bis zur zweiten Stunde nach der Behandlung an. Danach kam es zu einem kontinuierlichen Absinken des Blutgehaltes bis zum Morgen nach der Behandlung. Bei den Kühen Nr. 13 und 14 sank der Blutspiegel der Hydroxybuttersäure sofort nach der Glukoseinfusion. Vier Stunden bzw. erst vierundzwanzig Stunden post applicationem konnte dann ein neuerliches Ansteigen registriert werden. Physiologische Blutspiegel der Hydroxybuttersäure wurden nur bei leichter Ketose

erreicht. (Prozentuale Erniedrigung: 42.51 %, 78.87 % und 67.89 % des Anfangsgehaltes)

Erwartungsgemäß lag der Serumgehalt an Blutzucker zwei Stunden nach Therapie am höchsten. In der vierten Stunde war er wieder stark gesunken. Einer Erhöhung in der zweiten Stunde um 58.64 %, 81.52 % bzw. 271.27 % des Anfangsgehaltes folgte eine Erniedrigung in den nächsten zwei Stunden um 53.77 %, 69.86 % bzw. 60.05 % im Vergleich zu den Konzentrationen zwei Stunden nach der Behandlung. Der Blutzuckerspiegel fiel dann nochmals bei zwei Kühen leicht ab, bei Kuh Nr. 13 stabilisierte er sich. Zur Stunde 8 lag der Glukosegehalt bei allen Kühen unter der physiologischen Norm. Am Morgen nach der Behandlung waren die Serumgehalte der Glukose wieder im Normbereich.

Bei allen drei Kühen sank unter Therapieeinfluß der Gehalt an freien Fettsäuren im Serum. Die Konzentrationen bei den Kühen Nr. 13 und 14 verminderten sich stetig bis zur achten bzw. vierten Stunde nach Beendigung der Glukoseinfusion. Daraufhin erhöhten sich die Serumgehalte wieder. Bei beiden Kühen überstieg der Anfangsgehalt der freien Fettsäuren im Serum den Gehalt vierundzwanzig Stunden nach der Behandlung. Das Konzentrationsminimum der freien Fettsäuren im Serum wurde bei Kuh Nr. 12 schon zwei Stunden post applicationem erreicht. In den folgenden Stunden schwankte der Gehalt dann stark. (Prozentuale Erniedrigung: 80.12 %, 56.99 % und 82.85 % des Ausgangsgehaltes)

Die Veränderungen der Triglyceridkonzentrationen im Serum nach der Glukoseinfusion waren nicht einheitlich. Bei zwei Kühen schwankten die Serumgehalte im üblichen Rahmen. Bei Kuh Nr. 12 war eine Zunahme der Konzentration von 7 mg/dl auf 19 mg/dl bis zur vierten Stunde nach der Behandlung zu registrieren. Zur Stunde 8 war der Serumtriglyceridgehalt dann wieder auf 3.12 mg/dl abgefallen.

Der Serumcholesterinspiegel zeigte nach der Behandlung keine Abweichungen von der Norm.

Das Absinken des Gehaltes der Ketonkörper im Blut hatte seine Entsprechung im Harn. Zu Beginn der Untersuchungen wurde bei den Kühen Nr. 12 und 13 eine Ketonkörperkonzentration im Harn von ++ (40-100 mg/dl) ermittelt. Am Abend des Behandlungstages und auch am Morgen danach konnten bei diesen Kühen im Harn mit Hilfe des Teststreifens keine Ketonkörper mehr nachgewiesen werden. Die Reaktion des Teststreifens zu Anfang der Untersuchung lag bei Kuh Nr. 14 bei +++ (über 100 mg/dl), in der achten Stunde nach Applikation wurde das Konzentrationsminimum gemessen (+ =5-40 mg/dl), am nächsten Morgen dann die Konzentration von ++ (40-100 mg/dl).

Tab. 20: Verlauf der Blut-Azetazetatgehalte in mmol/l bei Kühen mit Ketonurie nach Verabreichung der Standardtherapie

Kuh Nr.	Std. 0	Std. 2	Std. 4	Std. 8	Std. 24
12	0.214	0.031	0.068	0.074	0.080
13	0.076	0.025	0.024	0.034	0.041
14	0.990	0.246	0.217	0.232	0.798
$\bar{x}$	0.427	0.107	0.103	0.113	0.306
s	0.493	0.126	0.101	0.105	0.426

Tab. 21: Verlauf der Gehalte an Hydroxybutyrat im Blut in mmol/l bei Kühen mit Ketonurie nach Verabreichung der Standardtherapie

Kuh Nr.	Std. 0	Std. 2	Std. 4	Std. 8	Std. 24
12	1.066	1.403	0.908	0.771	0.615
13	0.653	0.138	0.150	0.283	0.358
14	3.550	2.551	1.238	1.140	2.071
$\bar{x}$	1.756	1.364	0.765	0.731	1.015
s	1.567	1.207	0.558	0.430	0.924

Tab. 22: Verlauf der Serum-Glukosegehalte in mg/dl bei Kühen mit Ketonurie nach Verabreichung der Standardtherapie

Kuh Nr.	Std. 0	Std. 2	Std. 4	Std. 8	Std.24
12	42.12	66.82	30.89	28.08	54.59
13	68.84	124.96	37.67	43.52	66.49
14	42.12	156.38	61.77	35.10	67.82
$\bar{x}$	51.03	116.05	43.44	35.57	62.97
s	15.43	45.44	16.23	7.73	7.28

Tab. 23: Verlauf der Serumgehalte an freien Fettsäuren in mmol/l bei Kühen mit Ketonurie nach Verabreichung der Standardtherapie

Kuh Nr.	Std. 0	Std. 2	Std. 4	Std. 8	Std.24
12	0.337	0.067	1.077	0.518	0.971
13	1.216	1.198	0.553	0.523	0.847
14	2.280	1.391	0.905	1.210	0.763
$\bar{x}$	1.278	0.885	0.845	0.750	0.860
s	0.973	0.715	0.267	0.398	0.105

Tab. 24: Verlauf der Serum-Triglyceridgehalte in mg/dl bei Kühen mit Ketonurie nach Verabreichung der Standardtherapie

Kuh Nr.	Std. 0	Std. 2	Std. 4	Std. 8	Std.24
12	7.28	15.60	19.76	3.12	6.24
13	8.32	5.20	6.24	3.12	6.24
14	6.24	-	5.20	6.24	-
$\bar{x}$	7.28	-	10.40	4.16	-
s	1.04	-	8.12	1.80	-

Tab. 25: Verlauf der Serum-Cholesteringehalte in mg/dl bei Kühen mit Ketonurie nach Verabreichung der Standardtherapie

Kuh Nr.	Std. 0	Std. 2	Std. 4	Std. 8	Std. 24
12	145.01	162.07	156.10	155.24	162.07
13	48.62	35.83	46.00	34.97	47.77
17	94.68	87.01	75.06	80.10	78.42
$\bar{x}$	96.10	98.95	92.39	90.10	96.09
s	48.21	89.26	57.06	60.76	59.16

Erwartungsgemäß sanken die Gehalte der Ketonkörper im Blut von Kühen mit Ketonurie nach der Infusion von 250 g Glukose und 250 g Fruktose und der zusätzlichen Verabreichung von 160 IE Insulin und von Propylenglykol zwei bis acht Stunden lang ab. Nach einem schnellen, starken Anwachsen verminderte sich der Serum-Glukosespiegel wieder. Der Gehalt der freien Fettsäuren nahm unter der Behandlung ab. Der Serum-Triglycerid- und der -Cholesteringehalt blieben unbeeinflusst.

Klinische Befunde: In Bezug auf das klinische Verhalten gab es bei keinem Tier Auffälligkeiten. Die Futteraufnahme blieb in der Norm, die Milchleistungen entsprachen den Erwartungen.

Tab. 26 Veränderungen der Blut- bzw. Serumkonzentrationen von Azetazetat (Azaz.), Hydroxybutyrat (HBS), Glukose, freien Fettsäuren (FFS), Triglyceriden (Tri.) und von Cholesterin (Chol.) bei drei Kühen mit Ketonurie nach Verabreichung der Standardtherapie (Veränderungen in Prozent der Anfangsgehalte)

Kuh Nr.	Veränderung in Prozent					
	Azaz.	HBS	Glukose	FFS	Tri.	Chol.
12	-85.51	-42.51	+58.64	-80.12	+171.43	-
13	-68.42	-78.87	+81.52	-56.99	-	-
14	-78.08	-67.89	+271.27	-82.85	-	-

Behandlungsergebnisse bei der intravenösen Verabreichung von 250 mg Etomoxir pro Tier an Kälber mit Enteritis catarrhalis acuta

Die Absicht, Kälber in die Untersuchungen einzubeziehen, entstand während der Behandlungsversuche an Kühen. Die Veränderungen im Glukosespiegel der Kühe unter Etomoxirbehandlung entsprachen nicht denen, die Wolf (1982) an kleinen Labortieren erzielte. Es interessierte daher der Verlauf der Blutzuckerkonzentration bei jungen Kälbern, die sowohl was den Verdauungsapparat als auch was den Kohlenhydratstoffwechsel betrifft, den Monogastriern eher zu vergleichen sind. Die Versuche wurden bevorzugt an Kälbern durchgeführt, die an Enteritis catarrhalis acuta erkrankt waren und schon ein bis zwei Tage keine Tränke mehr aufgenommen hatten. In diesen Tagen wurden sie intravenös ernährt. Da Veränderungen im Blutglukosegehalt nur an nüchternen Labortieren gemessen werden konnten, erwartete man bei diesen Kälbern am ehesten Schwankungen im Blutzuckerspiegel.

Zur genaueren Orientierung wurde zur Messung der Glukosekonzentration in den ersten zwei Stunden fünfmal und weiter nach Ablauf der 3., 4., und 24. Stunde Blut entnommen. Kalb Nr. 18 erhielt das Natriumsalz der freien Säure (B 827-33) als intravenöse Infusion, während die anderen Kälber (wie die erwachsenen Rinder) Etomoxir als Ester (B. 807-54) verabreicht bekamen.

Tab. 27: Tränkeaufnahme von vier Kälbern am Tag der Untersuchung sowie die per Dauertropf-Infusion verabreichte Flüssigkeitsmenge

Milchaufnahme	Kalb 15	Kalb 16	Kalb 17	Kalb 18
morgens	-	-	-	-
mittags	-	-	0.51	1.01
abends	2.01	2.01	-	1.01
nächster Morgen	2.01	2.01	1.51	1.01
Zwischentränke (Elektrolytlösg.)				
vormittags	2.01	-	-	1.51
nachmittags	-	1.51	-	1.01
Dauertropfinf. (0.9 %ige NaCl- Lösung)	4.01	5.01	5.01	-

Die Versuche fanden am 24.1., 17.2., 22.2. und am 18.3.1986 statt.

Befunde der Laboruntersuchungen: Vor Verabreichung von Etomoxir lag der Gehalt des Azetazetats im Blut der Kälber im Schnitt bei $\bar{x} = 0.019 \text{ mmol/l}$ ($s = 0.0013$). Bei drei Kälbern war bis zu achten Stunde eine leicht abnehmende Tendenz zu erkennen. Kalb Nr. 17 zeigte auf die Applikation von Etomoxir keine Veränderung des Blutgehaltes von Azetazetat.

Der mittlere Gehalt des Hydroxybutyrats im Blut lag zu Anfang der Untersuchung bei $\bar{x} = 0.055 \text{ mmol/l}$ ($s = 0.016$). Auffällige Veränderungen in der Hydroxybutyratkonzentration konnten unter Einfluß von Etomoxir nicht beobachtet werden.

Der Ausgangswert der Blutglukose war bei den Kälbern nicht einheitlich. Bei drei von ihnen wurden normoglykämische Konzentrationen von im Schnitt 69.72 mg/dl gemessen. Das Kalb Nr. 18 litt unter Hypoglykämie (Anfangsgehalt = 52.90 mg/dl). Die normoglykämischen Kälber reagierten anders auf Etomixir

als das hypoglykämische. Bei den normoglykämischen Kälbern schwankten die Konzentrationen an Glukose im Serum in den ersten drei Stunden post applicationem um den Anfangsgehalt. Danach nahm der Blutzuckergehalt unterschiedlich stark ab. Am Morgen nach Verabreichung von Etomoxir lag der Serumglukosegehalt bei zwei Kälbern über dem Ausgangsgehalt, bei Kalb Nr. 17 deutlich darunter.

Bei dem Kalb mit der hypoglykämischen Ausgangslage sank der Blutzuckergehalt sofort nach Beendigung der Infusion bis zur zweiten Stunde, danach um 39.85 % des Ausgangswertes. Die Glukosekonzentration nahm dann im Laufe des Tages langsam wieder zu. Der Gehalt am nächsten Morgen lag deutlich höher als zur Stunde 0.

Die mittlere Konzentration der freien Fettsäuren im Serum lag bei den Kälbern vor Applikation des Präparates bei $\bar{x} = 0.238 \text{ mmol/l}$ ($s = 0.163$). Bei drei Kälbern erhöhten sich nach der Verabreichung von Etomoxir die Konzentrationen im Laufe der zweiten bis achten Stunde post applicationem. Danach wurde jeweils eine langsame Verminderung der Serumgehalte der freien Fettsäuren registriert. Bei Kalb Nr. 15 war keine solche Kurve zu erkennen. Der Spiegel der freien Fettsäuren schwankte nach der Behandlung stark.

Der Mittelwert der Triglyceridkonzentrationen im Serum lag zur Stunde 0 bei $\bar{x} = 12.82 \text{ mg/dl}$ ($s = 3.65$). Eine starke Erhöhung der Konzentration bis zur Stunde 4 zeigte Kalb Nr. 15. Nach acht Stunden war der Gehalt wieder stark gesunken, am nächsten Morgen lag er erneut sehr hoch. Bei den anderen Kälbern wurden keine so großen Konzentrationsschwankungen festgestellt. Nach anfänglichem leichten Absinken der Triglyceridgehalte folgte bei Kalb Nr. 16 ein Anstieg bis zur achten Stunde nach der Behandlung, zur Stunde 24 lag die Konzentration wieder auf Mittelwerthniveau. Kaum eine Verschiebung des Serum-Triglyceridspiegels wurde bei Kalb Nr. 17 beobachtet. Das Blut von Kalb Nr. 18 wurde nicht auf den

Triglyceridgehalt untersucht.

Der Serumgehalt an Cholesterin lag anfangs bei $\bar{x}$ = 31.34 mg/dl (s = 13.54). Auffällige Veränderungen im Cholesteringehalt nach Verabreichung von Etomoxir konnten nicht festgestellt werden.

Pathologische Befunde im Harn konnten bei keinem Kalb erhoben werden.

Tab. 28: Verlauf der Blut-Azetazetatgehalte in mmol/l bei Kälbern nach intravenöser Verabreichung von 250 mg Etomoxir pro Tier

Kalb Nr.	Std. 0	Std. 2	Std. 4	Std. 8	Std. 24
15	0.020	0.013	0.011	0.023	0.018
16	0.018	0.007	0.009	0.013	0.019
17	0.019	0.025	0.018	0.023	0.023
18	0.021	0.017	0.006	0.018	0.026
$\bar{x}$	0.019	0.015	0.011	0.019	0.021
s	0.0013	0.0075	0.0051	0.0048	0.0036

Tab. 29: Verlauf der Blutgehalte an Hydroxybutyrat in mmol/l bei Kälbern nach intravenöser Verabreichung von 250 mg Etomoxir pro Tier

Kalb Nr.	Std. 0	Std. 2	Std. 4	Std. 8	Std. 24
15	0.050	0.065	0.053	0.073	0.070
16	0.074	0.030	0.030	0.099	0.073
17	0.035	0.034	0.038	0.028	0.036
18	0.061	0.061	0.041	0.049	0.094
$\bar{x}$	0.055	0.047	0.040	0.062	0.068
s	0.016	0.018	0.0095	0.031	0.024

Tab. 30: Verlauf der Serumgehalte an freien Fettsäuren
in mmol/l bei Kälbern nach intravenöser
Verabreichung von 250 mg Etomoxir pro Tier

Kalb Nr.	Std. 0	Std. 2	Std. 4	Std. 8	Std.24
15	0.275	0.169	1.135	0.169	0.322
16	0.437	0.449	0.657	0.758	0.273
17	0.046	0.268	0.295	0.249	0.154
18	0.195	1.444	0.927	0.569	0.201
$\bar{x}$	0.238	0.582	0.753	0.436	0.237
s	0.163	0.586	0.363	0.275	0.075

Tab. 31: Verlauf der Serum-Triglyceridgehalte in mg/dl
bei Kälbern nach intravenöser
Verabreichung von 250 mg Etomoxir pro Tier

Kalb Nr.	Std. 0	Std. 2	Std. 4	Std. 8	Std.24
15	12.48	15.60	34.32	6.24	70.72
16	16.64	14.56	20.0	36.40	20.80
17	9.36	10.40	10.40	11.44	11.44
18	-	-	-	-	-
$\bar{x}$	12.82	13.52	21.57	18.02	34.32
s	3.65	2.75	12.04	16.12	31.87

Tab. 32: Verlauf der Serum-Cholesteringehalte in mg/dl
bei Kälbern nach intravenöser
Verabreichung von 250 mg Etomoxir pro Tier

Kalb Nr.	Std. 0	Std. 2	Std. 4	Std. 8	Std.24
15	39.24	33.27	25.59	22.18	32.41
16	38.38	42.65	40.09	45.21	44.36
17	11.09	11.94	19.62	14.50	17.06
18	36.67	36.68	29.85	44.36	52.89
$\bar{x}$	31.34	31.13	28.79	31.56	36.68
s	13.54	13.37	8.62	15.59	15.54

Tab. 33: Verlauf der Serum-Glukosegehalte in mg/dl
bei Kälbern nach intravenöser
Verabreichung von 250 mg Etomoxir pro Tier

Std.	Kalb Nr.					
	15	16	17	$\bar{x}$	s	18
0	72.54	66.90	69.73	69.72	2.82	52.90
0.30	79.59	76.75	64.58	73.64	7.97	48.20
1	81.90	69.26	59.44	70.20	11.26	43.51
1.30	77.45	63.45	70.20	70.36	7.00	35.13
2	75.10	65.52	78.16	72.92	6.59	31.82
3	74.88	57.56	75.82	69.42	10.28	40.01
4	79.10	61.78	47.24	62.70	15.95	46.79
8	28.08	51.00	55.22	44.76	11.92	47.73
24	93.01	100.60	39.78	77.79	33.14	72.54

Klinische Befunde: In Bezug auf das klinische Verhalten der Kälber nach Injektion (bzw. Infusion bei Kalb Nr. 18) von Etomoxir fielen deutlich Unverträglichkeiten auf. Alle Kälber wurden sehr schwach, sie konnten sich nicht mehr auf den Beinen halten und sanken um. Sie reagierten teils mit Arrhythmie, teils mit Bradycardie und frequenter Atmung.

Bei den Kälbern 15 und 16 trat nach der Verabreichung von Etomoxir eine ausgeprägte Bradycardie (45 bzw. 50 Schläge pro Minute) sowie eine frequente Atmung auf. Beide Tiere wirkten äußerst kraftlos. Nach etwa zehn Minuten lag die Herzfrequenz wieder im normalen Bereich, die Atmung beruhigte sich erst nach eineinhalb Stunden. Nachdem beide Tiere am Morgen vor Versuchsbeginn nichts getrunken hatten, nahmen sie abends je 2 l Milch zu sich. Am nächsten Morgen war die Tränkeaufnahme wieder normal.

Unmittelbar nach Injektion von Etomoxir war der Herzschlag bei Kalb Nr. 17 arrhythmisch, die Atemfrequenz lag bei 112 pro Minute, die Atmung war

angestrengt. Das Kalb lag, nachdem es umgesunken war, kraftlos mit gestreckter Halshaltung. Die Atemfrequenz normalisierte sich innerhalb der nächsten 15 Minuten wieder, die Herzfrequenz erhöhte sich von 60 Schlägen pro Minute in der vierten Minute auf 88 in der 15. Minute. Diese Werte wurden mit kleinen Schwankungen beibehalten. Erst drei Stunden post applicationem stand das Tier zum ersten Mal wieder auf und trank mit Hilfe 0.5 l Milch. Sonst nahm es an diesem Tag keine Tränke auf, die Tränkeaufnahme war jedoch schon am Vortag schlecht. Erst am Tag nach dem Versuch trank das Tier erstmals dreimal 1.5 l verdünnte Milch und zweimal 1.5 l Elektrolytlösung.

Auf Grund der starken Nebenwirkungen des Präparats Etomoxir in Form des Esters B 807-54 wurde auf eine weitere Anwendung verzichtet und stattdessen bei Kalb Nr. 18 B 827-33 das Natriumsalz der freien Säure, (gelöst in einem Liter physiologischer Kochsalzlösung) verwendet. Das Salz löste sich jedoch nicht vollständig.

Der klinische Zustand von Kalb Nr. 18 war während der Infusion nicht gestört. Kurz nach Beendigung der Infusion wurde das Kalb allerdings sehr schwach, lag nur und bewegte sich nicht. Das Herz schlug völlig arrhythmisch, die Frequenz war kaum zu zählen. Die Atemfrequenz erhöhte sich von 20 auf 100 pro Minute zehn Minuten nach Beendigung der Infusion. Die Atmung war angestrengt. Die Arrhythmie des Herzens und der labile Zustand des Patienten machten 20 Minuten nach Infusionsende die intravenöse Injektion von 2 ml Effortil[®] erforderlich. Zehn Minuten danach lag die Atemfrequenz bei 40 pro Minute, der Herzschlag war immer noch arrhythmisch. Erst eineinhalb Stunden nach Infusionsende wurde er wieder regelmäßig, ab diesem Zeitpunkt bewegte sich das Kalb auch wieder. Eine Stunde später stand es auf und trank die ihm angebotene Elektrolytlösung. Danach waren dann keine Unregelmäßigkeiten mehr zu registrieren. Nachdem das Kalb morgens um sieben Uhr keine Milch zu sich nahm,

trank es vor dem Versuch im Laufe des Vormittags 1.5 l Elektrolytlösung und 1 l Milch. Zweieinhalb Stunden nach Infusionsende trank es nochmals 1 l Elektrolytlösung und als Abendtränke 1 l Milch. Am nächsten Morgen nahm es 1 l Milch zu sich.

Tab. 34: Veränderung der Blut- bzw. Serumgehalte von Azetazetat (Azaz.), Hydroxybutyrat (HBS), Glukose, freien Fettsäuren (FFS), Triglyceriden (Tri.) und Cholesterin bei vier Kälbern nach der intravenösen Verabreichung von 250 mg Etomoxir pro Tier (Veränderungen in Prozent der Ausgangsgehalte)

Kalb Nr.	Veränderung in Prozent					
	Azaz.	HBS	Glukose	FFS	Tri.	Chol.
15	-45.0	-	-	-	-	-
16	-50.0	-	-	+ 73.45	-	-
17	-	-	-	+541.30	-	-
18	-71.43	-	-39.85	+640.51	-	-

DISKUSSION

Die vorliegenden Untersuchungsergebnisse zeigen, daß Etomoxir bei Wiederkäuern eine stark antiketogene Wirkung hat. Die Ausgangswerte der Ketonkörperkonzentrationen im Blut lagen bei den Kühen mit Ketonurie in dem in der Literatur beschriebenen Rahmen für subklinische bis klinische Ketose (Kolb, 1981; Bergmann, 1970). Die erhöhten Blutkonzentrationen der Azetessigsäure konnten durch Applikation von Etomoxir in einer Dosis von 5 mg/kg KGW um 67 % bis 83 % gesenkt werden. Die Gehalte an Hydroxybuttersäure im Blut nahmen um 49 % bis 66 % ab. Erwartungsgemäß verstärkte sich die Wirkung bei Verabreichung von höheren Etomoxir-Mengen. Bei Anwendung von 10 mg/kg KGW lag der Abfall der Konzentrationen des Azetazetats und des Hydroxybutyrats im Blut bei 93 %-97 %.

Diese Beobachtungen und auch der zeitliche Verlauf - eine vier - bis achtsündige Reduktion des Blutketonkörperspiegels - stimmen mit den Untersuchungsergebnissen von Wolf et al. (1982) an Ratten und Meerschweinchen grundsätzlich überein; in den Versuchen von Wolf sank jedoch der Gehalt an Hydroxybutyrat im Blut stärker als derjenige an Azetazetat. Einer Konzentrationsabnahme von 30 % bis 50 % bei Azetazetat steht eine solche von 60 % bis 75 % bei Hydroxybuttersäure gegenüber. Dieser Unterschied kann darauf zurückgeführt werden, daß bei den Monogastriern der Hauptort der Ketonkörpersynthese die Mitochondrien der Leberzellen sind (Williamson, 1981). Demgegenüber wird Hydroxybuttersäure bei den Wiederkäuern nicht nur in der Leber, sondern auch in nennenswertem Umfang im Pansenepithel gebildet (Stevens und Stettler, 1966; Radloff et al., 1966). Etomoxir hemmt die β -Oxidation, den Abbauweg der freien Fettsäuren, und verhindert dadurch die Bildung von Azetyl-CoA in der Leberzelle. Der biochemische Angriffspunkt ist das Enzym Carnitinpalmitoyltransferase I, das langkettige

Fettsäuren zum Abbau aus dem Zytoplasma in das Mitochondrium transportiert. Fehlt Azetyl-CoA, können auch keine Ketonkörper mehr gebildet werden. Da beim Wiederkäuer jedoch die Leber nicht der einzige Synthesort des Hydroxybutyrats ist und Etomoxir auf die Bildung im Pansenepithel keinen Einfluß hat, fällt die Hydroxybuttersäurekonzentration im Blut prozentual beim Wiederkäuer weniger ab als beim Monogastrier.

Die antiketogene Wirksamkeit von Etomoxir ist in der niedrigen Dosierung der einer intravenösen Infusion von 250 g Glukose und 250 g Fruktose mit gleichzeitiger Applikation von 160 IE Insulin und der oralen Verabreichung von zweimal 200 ml Propylenglykol pro Tag vergleichbar. Auch der zeitliche Verlauf der Konzentrationsabnahme der Ketonkörper im Blut ist bei beiden Therapiearten ähnlich. Die Ergebnisse der eigenen Untersuchungen decken sich mit denjenigen von Kedenburg und Mülling (1971). Diese konnten nach einer intravenösen Infusion von 500 g Glukose eine Erniedrigung der Gehalte an Azetazetat und Hydroxybutyrat im Blut um 83 % bzw. 61 % innerhalb von zwei Stunden nachweisen. Mit zusätzlicher Applikation von Insulin verminderten sich die entsprechenden Konzentrationen nach zwei Stunden um 91 % bzw. 72 % der Ausgangsgehalte. Sowohl in den eigenen Untersuchungen als auch in denjenigen von Kedenburg und Mülling sanken die Blutgehalte an Azetazetat stärker ab als die Hydroxybutyratkonzentrationen.

Auch bei Roberts und Dye (1951) nahmen die Blutkonzentrationen der Ketonkörper nach Infusion von 1000 ml einer 40prozentigen Glukoselösung rasch ab. Die Autoren weisen jedoch auf die kurze Dauer des Therapieerfolges auf Grund der schnellen Eliminierung der zugeführten Glukose hin. Die gleichzeitige Anwendung von Insulin und die unterstützende Therapie mit Propylenglykol können diese Nachteile etwas korrigieren.

Neben der Zunahme der Ketonkörperkonzentration im Blut spielt im Krankheitsbild der Ketose auch die Erniedrigung des Blutzuckergehaltes eine maßgebliche Rolle (Adler, 1963; Bergmann, 1970; Metzger, 1983). Auch in den eigenen Untersuchungen konnte nachgewiesen werden, daß die mittlere Konzentration an Glukose, die bei gesunden Kühen bei 67.85 mg/dl lag, bei Kühen mit Ketonurie auf 45.30 mg/dl abgesunken war. Dem Anheben der Blut-Glukosekonzentration kommt in der Therapie der Ketose eine zentrale Rolle zu.

Auf Grund der Untersuchungsergebnisse an kleinen Labortieren wurde auch nach der Applikation von Etomoxir beim Wiederkäuer ein Absinken des Blut-Glukosegehaltes erwartet. Wolf et al. (1982) nennen Etomoxir und seine chemischen Verwandten "eine neue Klasse von stark hypoglykämisch wirkenden Substanzen". Bei den eigenen Untersuchungen an Wiederkäuern stieg jedoch die Konzentration der Glukose nach Applikation der niedrigen Dosierung von Etomoxir (5 mg/kg KGW) um 15 % bis 79 % des Ausgangsgehaltes an, nach Verwendung von 10 mg/kg KGW um 36 % bzw. 133 %. Die Erhöhung der Glukosekonzentration verlief zeitlich parallel mit der Verminderung des Ketonkörperspiegels.

Die Blutbefunde nach Verabreichung der "Standardtherapie" (siehe Seite 24) ließen eine plötzlich auftretende, deutliche Spitze im Blutzuckergehalt in der zweiten Stunde nach der Behandlung erkennen. Darauf folgte eine ebenso starke Abnahme in der vierten Stunde. Das ist bei Überschwemmen des Körpers mit Glukose auch nicht anders zu erwarten. Wie die Untersuchungsergebnisse von Roberts und Dye (1951), Gründer (1961) und Kedenburg und Mülling (1971) nach einer Glukoseinfusion an ketosekranke Kühe zeigten, ist das Konzentrationsmaximum des Blutzuckers schon 30 Minuten nach Infusionsende erreicht. Ab diesem Zeitpunkt sinkt der Blutzuckergehalt langsam wieder ab. Kedenburg und Mülling (1971), die auch Untersuchungen mit der zusätzlichen Verabreichung von 0.5 und 0.75 IE Insulin pro kg KGW machten, geben an, daß die

Glukosekonzentration innerhalb von vier Stunden wieder auf Normalwerte abgefallen ist. Auch das Insulin ist zu diesem Zeitpunkt aus dem Blutkreislauf eliminiert.

Worauf der Unterschied in der Wirkung von Etomoxir auf den Verlauf des Blutzuckerspiegels bei den Labortieren und den erwachsenen Wiederkäuern beruht, kann auf Grund der vorliegenden Untersuchungsergebnisse nicht entschieden werden. Auch bei den Monogastriern sind die Stoffwechselmechanismen, die zu der Etomoxir-induzierten Hypoglykämie führen, nicht bekannt. Die Phenyloxirancarboxylsäuren, zu denen Etomoxir zählt, gehören in eine Gruppe von Substanzen, die als synthetische Fettsäuren die β -Oxidation der freien Fettsäuren, an welchem Angriffsort auch immer, hemmen. Sie bewirken eine Hypoglykämie, die zeitlich nach der Hemmung des Fettsäureabbaus einsetzt (Holland et al., 1973; Kean und Pogson, 1979; Tutwiler und Mohrbacher, 1979; Wolf und Engel, 1985). Bezüglich des Präparates McN-3716, das auch unter diese Substanzgruppe fällt, konnte von Tutwiler und Mohrbacher (1979) als ein Erklärung für die Hypoglykämie eine Intensivierung der Glukoseoxidation in der Muskulatur des Zwerchfells nachgewiesen werden. Eine gleiche Wirkung wird auch dem Etomoxir zugeschrieben. Ferner konnten Wolf et al. 1985 zeigen, daß gleichzeitig die Glukoneogenese aus Laktat und Pyruvat in den Leberzellen von Ratten unter Etomoxirwirkung gehemmt ist. Man vermutet, daß zwischen der Hemmung der β -Oxidation und dem zeitlich versetzten Auftreten der Hypoglykämie ein kausaler Zusammenhang besteht. Ein Erklärungsmuster bietet der von Randle vorgeschlagene "glucose-fatty acid cycle" (Tutwiler und Mohrbacher, 1979). Genauere Befunde, was den biochemischen Weg betrifft, gibt es jedoch noch nicht. Es muß daher vorerst offen bleiben, warum der Wiederkäuer in seinem Stoffwechsel auf Etomoxir anders reagiert als das kleine Labortier und mit einer Erhöhung des Blutzuckerspiegels antwortet.

Durch die starke Lipolyse liegt bei Kühen mit Ketonurie der Serumgehalt der freien Fettsäuren über dem Normalbereich. Metzger (1983) ermittelte bei Kühen mit Ketonurie eine durchschnittliche Konzentration der freien Fettsäuren im Serum von 0.871 mmol/l . In den eigenen Untersuchungen lag einem Mittelwert von 0.565 mmol/l bei gesunden Kühen ein Mittelwert von 0.997 mmol/l bei Kühen mit Ketonurie gegenüber. Unter Etomoxireinfluß nahm der Serumgehalt der freien Fettsäuren acht bis vierundzwanzig Stunden lang zu, also etwas länger als die Veränderungen im Ketonkörper- und Glukosestoffwechsel anhielten. Zwischen den zwei gewählten Dosierungen gab es keinen Unterschied hinsichtlich der Wirkungsstärke. Die Konzentrations-Maxima der freien Fettsäuren im Serum lagen im Schnitt um das zwei- bis fünffache über dem Ausgangsgehalt.

Auch bei den kleinen Labortieren stiegen die Serumgehalte der freien Fettsäuren nach Verabreichung von Etomoxir an (Wolf et al., 1982). Die Konzentrationserhöhung war jedoch dosisabhängig. Wolf et al. (1982) erklären die Zunahme der Konzentration der freien Fettsäuren im Serum nicht nur mit dem erwartungsgemäßen Rückstau der freien Fettsäuren ins Blut. Er zieht auch eine Adrenalinausschüttung als Folge der Hypoglykämie in Betracht, was zusätzlich lipolytisch wirkt. Als Anhaltspunkt für diese Erklärung dient die Tatsache, daß der Zuwachs in den Serumkonzentrationen der freien Fettsäuren länger andauert als die Veränderungen im Blut-Ketonkörper und -Glukosegehalt. Ob diese Adrenalinausschüttung auch bei Wiederkäuern gegeben ist, bei denen ja gerade keine Hypoglykämie auftritt, muß offen bleiben.

Das Anschwellen des Serumpiegels der freien Fettsäuren nach Etomoxirbehandlung steht im Gegensatz zu den Befunden nach Verabreichung der Glukoseinfusion. Die Konzentrationen fielen in den eigenen Untersuchungen nach der genannten "Standardtherapie" um 57 % bis 83 % innerhalb von vier bis acht Stunden ab. Kedenburg und

Mülling (1971) beobachteten nach Glukoseinfusion eine Verminderung des Serumgehaltes der freien Fettsäuren um 42% des Ausgangsgehaltes nach zwei Stunden. Bei gleichzeitiger Insulinverabreichung ergaben die Messungen eine Erniedrigung der Serumkonzentration bis zu 81% binnen einer Stunde. Dieser Unterschied zur Etomoxirbehandlung kann aus dem grundsätzlich anderen Ansatz der beiden Therapiearten erklärt werden. Sowohl die Bereitstellung von Glukose als auch die Applikation von Insulin wirken antilipolytisch. Sie vermindern somit den Serumgehalt an freien Fettsäuren. Etomoxir greift dagegen erst beim Abbau der freien Fettsäuren in der Leber an und läßt die Lipolyse im Fettgewebe unbeeinflusst. Daraus resultieren die starken Konzentrationszunahmen der freien Fettsäuren im Serum.

Beim Vergleich der mittleren Triglyceridkonzentrationen im Serum der gesunden Kühe zu denjenigen im Serum der kranken wurden vor Therapiebeginn keine Unterschiede beobachtet. Folge des Zuwachses der Serumkonzentration der freien Fettsäuren nach der Behandlung mit Etomoxir ist jedoch auch ein erhöhter Serumgehalt der Triglyceride. Dies wurde durch die eigenen Meßergebnisse bestätigt. Bei Kühen mit pathologischer Erhöhung des Gesamtbilirubingehaltes im Serum blieb jedoch die Zunahme der Triglyceridkonzentration auch unter Etomoxir-Medikation aus. Diese Tatsache weist auf ein Unvermögen der geschädigten Leber hin, ihre Stoffwechselfunktionen voll aufrecht zu erhalten. Es ist daher zu befürchten, daß die vorgeschädigte Leber bei Anwendung von Etomoxir noch weiter verfettet.

Die Erhöhung der Triglyceridkonzentration im Serum nach der Behandlung mit Etomoxir deckt sich mit den Untersuchungsergebnissen von Wolf et al. (1982) an kleinen Labortieren. Nach der Verabreichung der vorher genannten "Standardtherapie" war eine Konzentrationszunahme der Triglyceride im Serum nicht zu registrieren. Das ist auch nicht anders zu erwarten, da bei dieser Therapie auch kein Anstieg der freien Fettsäuren im Serum zu verzeichnen ist. Der Anstieg des

Serum- Triglyceridspiegels bei einer der behandelten Kühe ist nicht therapiebedingt. Ergebnisse von Messungen der Serum-Triglyceridgehalte nach einer Glukoseinfusion bei Kühen mit Ketose liegen in der Literatur nicht vor.

Auffällige Schwankungen des Serum-Cholesterinspiegels über die Norm hinaus konnten in den eigenen Untersuchungen weder unter Etomoxir- noch unter "Standardbehandlung" beobachtet werden. Wolf et al. (1982) verzeichneten im Verlauf des Serum-Cholesteringehaltes bei kleinen Labortieren bis zu fünf Stunden nach Applikation von Etomoxir keinerlei Veränderungen, nach vierundzwanzig Stunden konnte eine Verminderung um 43 % bezogen auf den Ausgangsgehalt nachgewiesen werden.

Die antilipolytisch wirkenden Substanzen Dimethylisoxazol und Dimethylpyrazol, die im Experiment zur Therapie der Ketose benützt werden, bewirken nach Untersuchungen von Schulz und Kewitz (1971) im Gegensatz zu Etomoxir eine Erniedrigung des Serumgehaltes an freien Fettsäuren. Die beiden Stoffe bewirken eine Hemmung der Lipolyse im Fettgewebe. Als Folge davon sinkt der Spiegel der freien Fettsäuren im Serum und die Konzentration an Ketonkörpern im Blut. Die antilipolytische Wirkung von Dimethylpyrazol ist jedoch bei Rindern mit schwerer Ketose geringer als bei gesunden Tieren. Während der Blutspiegel gesunder Rinder von diesen Präparaten nicht beeinflusst wird, kann die ohnehin schon verminderte Blut-Glukosekonzentration ketotischer Tiere dadurch noch weiter erniedrigt werden. Daher ist bei Anwendung dieser Mittel die gleichzeitige parenterale Zufuhr von Glukose notwendig. Die Erhöhung des Blutzuckergehaltes nach der Behandlung ketosekranker Kühe mit Etomoxir macht diese Maßnahme überflüssig.

Nach Verabreichung von Etomoxir an kleine Labortiere sind Konzentrationsschwankungen der Ketonkörper im Blut und der Glukose, der freien Fettsäuren, der Triglyceride und des Cholesterins im Serum nur bei nüchternen oder diabetischen Tieren aufgetreten (Wolf et al., 1982).

Bei normal ernährten Tieren wurden nach Etomoxirapplikation keine Veränderungen der genannten Blutparameter nachgewiesen. Diesen Untersuchungsergebnissen steht die Beobachtung gegenüber, daß bei Versuchen in vitro die Hemmung des Enzyms Carnitinpalmitoyltransferase I durch Etomoxir in den Mitochondrien der Leberzellen normal gefütterter Labortiere um 30 % stärker ausgeprägt ist als bei nüchternen (Wolf et al., 1982). Diese Tatsache deutet darauf hin, daß Etomoxir seine Wirkung nur in einer Stoffwechsellaage entfalten kann, die durch vermehrte Glukoneogenese und Lipolyse gekennzeichnet ist (Wolf et al., 1985). Kühe mit Ketose sind in vergleichbarer Stoffwechsellaage wie nüchterne Monogastrier. Die eigenen Untersuchungen an gesunden Kühen mit ausgeglichener Stoffwechselbilanz zeigen, daß bei diesen Tieren keine Veränderungen in den Konzentrationen der untersuchten Blutbestandteile nach Etomoxirmediation zu beobachten waren. Der Blutzuckerspiegel macht dabei eine Ausnahme. Wie bei den Kühen mit Ketonurie war auch bei den gesunden Kühen eine Erhöhung des Blutzuckerspiegels nach der Behandlung mit Etomoxir zu verzeichnen.

Die unerwartete Zunahme des Blutzuckergehaltes nach Verabreichung von Etomoxir war Anlaß, das Präparat versuchsweise auch bei ein bis drei Wochen alten Kälbern anzuwenden. Diese sind hinsichtlich Funktion des Verdauungstraktes und des Kohlenhydratstoffwechsels mit monogastrischen Labortieren eher zu vergleichen als die erwachsenen Wiederkäuer. Wie erwähnt, wurden Kälber gewählt, die an Durchfall erkrankt waren und schon einige Tage keine Tränke mehr aufgenommen hatten. Drei von den vier Kälbern waren zu Beginn der Untersuchungen in einer normoglykämischen Stoffwechsellaage. Bei einem Kalb wurde ein Glukosegehalt im Serum von 52.90 mg/dl gemessen. Entsprechend unterschiedlich war die Reaktion des Blutglukosespiegels auf die Behandlung mit Etomoxir. Bei allen drei normoglykämischen Kälbern blieb mindestens bis zu drei Stunden post applicationem der Serumgehalt der Glukose konstant. Eine Erniedrigung des Blutzuckergehaltes nach diesem Zeitraum kann nicht mehr

als Wirkung von Etomoxir interpretiert werden, da Reaktionen der Blubestandteile auf das Präparat viel früher einsetzen, was die Meßergebnisse an erwachsenen Rindern zeigen. Die beobachtete Verminderung des Blutzuckerspiegels bei den Kälbern drei Stunden nach Applikation kann in Zusammenhang mit der Nahrungsverweigerung gesehen werden. Bei dem Kalb mit der Hypoglykämie ist eine deutliche, kontinuierliche Abnahme des Blutglukosespiegels zwei Stunden lang bis auf die Konzentration von 60 % des Ausgangsgehaltes zu registrieren. Danach stieg die Konzentration langsam wieder an. Diese Befunde decken sich mit Beobachtungen von Wolf et al. (1982), die bei nüchternen Labortieren eine Reduktion des Blutglukosespiegels, bei normal ernährten jedoch keinerlei Veränderungen konstatierten. Durch diese Befunde werden die unterschiedlichen Stoffwechselwege der erwachsenen Wiederkäuer zu den Kälbern deutlich.

Die Blutkonzentration der Ketonkörper und die Serumgehalte der Glukose, der freien Fettsäuren, der Triglyceride und des Cholesterins zeigten bei allen vier Kälbern nach der Behandlung mit Etomoxir keine Abweichungen von der Norm. Es fällt auf, daß die Ausgangsgehalte der Hydroxybuttersäure im Blut vor Etomoxirapplikation bei den Kälbern deutlich unter den Werten der gesunden Kühe lagen. Auch der Cholesteringehalt im Serum war deutlich niedriger als bei gesunden, erwachsenen Rindern.

Der Einfluß von Etomoxir auf den Stoffwechsel der geprüften Blutbestandteile läßt dieses Präparat als geeignetes Therapeutikum bei der Ketose der Milchkühe erscheinen. Die klinische Verträglichkeit war jedoch nicht zufriedenstellend. Während nach der Behandlung mit der genannten "Standardtherapie" keine Unverträglichkeitsreaktionen auftraten, zeigten jedoch vier erwachsene Tiere und alle Kälber nach Etomoxirmediation Störung ihres Allgemeinbefindens.

Zwei Kühe reagierten mit schockartigem Umstürzen,

Bradycardie, frequenter Atmung. Eines dieser Tiere hatte jedoch das Präparat schon einmal zwei Wochen zuvor erhalten, ohne Erscheinungen zu zeigen. Die beiden Kühe, denen 10 mg/kg KGW verabreicht wurden, zeigten nach der Applikation von Etomoxir den ganzen Tag ein stark depressives Verhalten. Milchleistung und Freßlust waren vermindert. Bradycardie, Arrhythmie, frequente Atmung und Somnolenz traten auch bei allen vier Kälbern auf. Drei davon hatten Etomoxir als Ester (B 807-55), ein Kalb das Natrium-Salz der freien Säure (B 827-33) erhalten. Derzeit kann nicht entschieden werden, ob die Wirksubstanz selbst, das Äthanol als Lösungsmittel oder Zusatzstoffe für die beschriebenen Nebenwirkungen verantwortlich zu machen sind. Bezogen auf das geschätzte Blutvolumen der untersuchten Tiere kann davon ausgegangen werden, daß alle Kühe und drei der Kälber sofort nach der Injektion 0.25 % bzw. 1.25 % Äthanol im Blut hatten. Als Wirkungen des Alkohols werden von Henschler (1980) zentrale Dämpfung, Hyperventilation, Hypoglykämie und eine starke Diurese beschrieben. 1,4 % Äthanol im Blut wird beim Menschen als Grenze der akuten Vergiftung gewertet. Die Nebenwirkungen führten letztlich zum Abbruch der Untersuchungen. In den Abhandlungen von Wolf et al. (1982) über die Verabreichung von Etomoxir an kleine Labortiere werden solche Unverträglichkeiten nicht beschrieben. Etomoxir wurde jedoch bei den Versuchen von Wolf nicht in Alkohol gelöst verabreicht.

In den vorliegenden Untersuchungen erwies sich Etomoxir als geeignetes Therapeutikum, um die Stoffwechsellage der an Ketose erkrankten Kühe positiv zu beeinflussen: Die Ketonkörperkonzentration im Blut wurde deutlich gesenkt, der Blutglukosespiegel nahm zu. Problematisch ist jedoch die Erhöhung der Serumkonzentration an freien Fettsäuren und Triglyceriden. Dieser Wirkung auf die Blutbestandteile steht eine schlechte klinische Verträglichkeit des Präparates gegenüber. Kann dieses Problem gelöst werden, erscheint es als gerechtfertigt, das Präparat weiter zu prüfen.

Z U S A M M E N F A S S U N G

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde die Wirksamkeit einer neuen antiketogenen Substanz, Etomoxir (Oxirancarbonsäureethylester), bei der Ketose der Wiederkäuer geprüft.

Zwei gesunde sowie vier an Ketonurie erkrankte Kühe, zusätzlich vier an Enteritis catarrhalis acuta leidende Kälber erhielten Etomoxir in der Dosierung von 5 mg/kg KGW. Bei weiteren zwei an Ketonurie erkrankten Kühen wurde eine Dosis von 10 mg/kg KGW gewählt. Allen Tieren wurde Etomoxir intravenös verabreicht. Zum Vergleich dienten drei Kühe mit Ketonurie, bei denen eine intravenöse Infusion von 250 g Glukose und 250 g Fruktose mit zusätzlicher Verabreichung von 160 IE Insulin und zweimal 200 ml Propylenglykol pro Tag erfolgte.

Die Wirksamkeit von Etomoxir wurde beurteilt anhand der Gehalte von Azetazetat, Hydroxybutyrat, Glukose, freien Fettsäuren, Triglyceriden und Cholesterin im Blut der Tiere.

Die wichtigsten Ergebnisse der Arbeit sind:

1. Behandlung von Kühen mit Ketonurie:

- Etomoxir bewirkte eine vier bis acht Stunden anhaltende deutliche Verminderung der Blutgehalte der beiden Ketonkörper. Die Konzentration des Azetazetats sank nach Applikation von 5 mg Etomoxir pro kg Körpergewicht um 67 % bis 83 %, die des Hydroxybutyrats um 49 %-66 % des Ausgangswertes. Die Erniedrigung des Ketonkörperspiegels war dosisabhängig: Bei der höheren Dosierung (10 mg/kg KGW) verminderte sich die Konzentration um 93 %-97 % des Ausgangsgehaltes.

- Gleichzeitig mit der Abnahme des Ketonkörperspiegels war eine Steigerung des Blutzuckergehaltes um 15 % - 79 % bei der niedrigen und um 36 %-133 % bei der höheren Dosierung zu beobachten.
- Die Serumkonzentration an freien Fettsäuren stieg bis zur 24sten Stunde post applicationem stark an. Analog dazu war bei den Tieren, deren Leber noch nicht zu stark geschädigt war, auch eine Erhöhung des Triglyceridgehaltes im Serum zu verzeichnen. Ein Einfluß auf den Cholesterinspiegel konnte im untersuchten Zeitraum nicht nachgewiesen werden.
- Etomoxir war in der niedrigen Dosierung sowohl hinsichtlich seiner Wirkungsintensität als auch bezüglich der Wirkungsdauer ähnlich wirksam wie die verwendete Standardtherapie, bestehend aus einer Glukose/Fruktose-Infusion und der Verabreichung von Insulin und Propylenglykol. Im Gefolge der letztgenannten Behandlung sank im Gegensatz zur Therapie mit Etomoxir der Serumgehalt an freien Fettsäuren, während der Triglyceridgehalt unverändert blieb.

2. Verabreichung von Etomoxir an gesunde Kühe:

- Nach Verabreichung von Etomoxir konnte nur eine Erhöhung des Blutglukosespiegels von 17 %-34 % des Ausgangswertes registriert werden. Die anderen Blutparameter unterlagen keinen charakteristischen Veränderungen.

3. Behandlung von Kälbern:

- Bei Kälbern mit normoglykämischer Ausgangslage traten nach Etomoxir-Applikation keine Veränderungen in den Konzentrationen der untersuchten Blutbestandteile auf. Bei hypoglykämischer Ausgangslage verminderte sich jedoch der Blutzuckerspiegel zwei Stunden lang bis auf die Konzentration von 60 % des Ausgangsgehaltes.

4. 50 % der mit Etomoxir behandelten Kühe und alle Kälber zeigten schwere Nebenwirkungen. Diese äußerten sich in Bradycardie, frequenter Atmung und Somnolenz. Im Laufe von zwei bis drei Stunden erholten sich die Tiere wieder, völlig wiederhergestellt waren sie jedoch erst am Tag nach Beginn der Untersuchungen.

S U M M A R Y

Investigations on the therapeutic efficacy of Etomoxir, a phenylalkyl oxirane carboxylate, in ketosis of the dairy cow

This research investigated the efficacy of a new antiketogenic substance, Etomoxir (phenylalkyl oxirane carboxylate) against ketosis in cattle.

Two healthy cows and four sick cows with ketonuria, as well as four calves affected with acute catarrhal enteritis, received Etomoxir at a dose rate of 5 mg/kg body weight intravenously. In two more cows with ketonuria a dosage of 10 mg/kg body weight was administered. Three control cows with ketonuria were treated with an intravenous infusion of 250 g glucose and 250 g fructose together with 160 IE of insulin and 200 ml of propylene glycol twice a day..

The efficacy of Etomoxir was judged based on the blood concentration of acetoacetate, hydroxybutyrate, glucose, free fatty acids, triglycerides and cholesterol.

The most important results of the study are:

1. Treatment of cows with ketonuria:

- Etomoxir clearly reduced the blood concentration of both ketone bodies for four to eight hours. The concentration of acetoacetate decreased by 67 % to 83 % after administration of 5 mg Etomoxir/kg body weight, while hydroxybutyrate decreased by 49 % to 66 %. The decrease in ketone bodies was dose related: With the higher dose rate (10 mg/kg body weight), the concentration decreased by 93 % -97 % of initial values.

- Simultaneously with the decrease in ketone body levels, the blood glucose concentration increased by 15 %-79 % with the lower and by 36 %-133 % with the higher dose rate.
- The serum concentration of free fatty acids continued to rise markedly until 24 hours after treatment. In animals in which the liver was not yet too severely damaged, there was an analogous elevation in serum triglycerides. An effect on cholesterol concentration could not be demonstrated.
- Etomoxir at the lower dose rate was similar in the intensity and duration of its effects to a standard therapy consisting of glucose/fructose infusion, insulin and propylene glycol. In contrast to the results with Etomoxir treatment, the serum concentration of free fatty acids decreased and triglycerides remained unchanged with the standard treatment.

2. Administration of Etomoxir to healthy cows:

After the administration of Etomoxir, an increase by 17 % to 34 % in the blood glucose concentration was recorded. No characteristic alterations were noted in the other blood parameters.

3. Treatment of calves:

In calves with initially normal blood glucose concentration, application of Etomoxir resulted in no changes in the concentration of the investigated blood components. In initially hypoglycemic calves, the blood glucose concentration was decreased for two hours to 60 % of the initial value.

4. Fifty percent of the cows and all of the calves treated with Etomoxir developed severe side effects. These consisted of bradycardia, increased respiratory rate, and somnolence. The animals improved over the course of two to three hours, but the side effects did not completely disappear until the day after administration of the drug.

Abb. 1: Verlauf der mittleren Blut- bzw. Serumkonzentrationen von Azetazetat, β -Hydroxybutyrat und der freien Fettsäuren bei vier gesunden Kühen innerhalb von acht Stunden

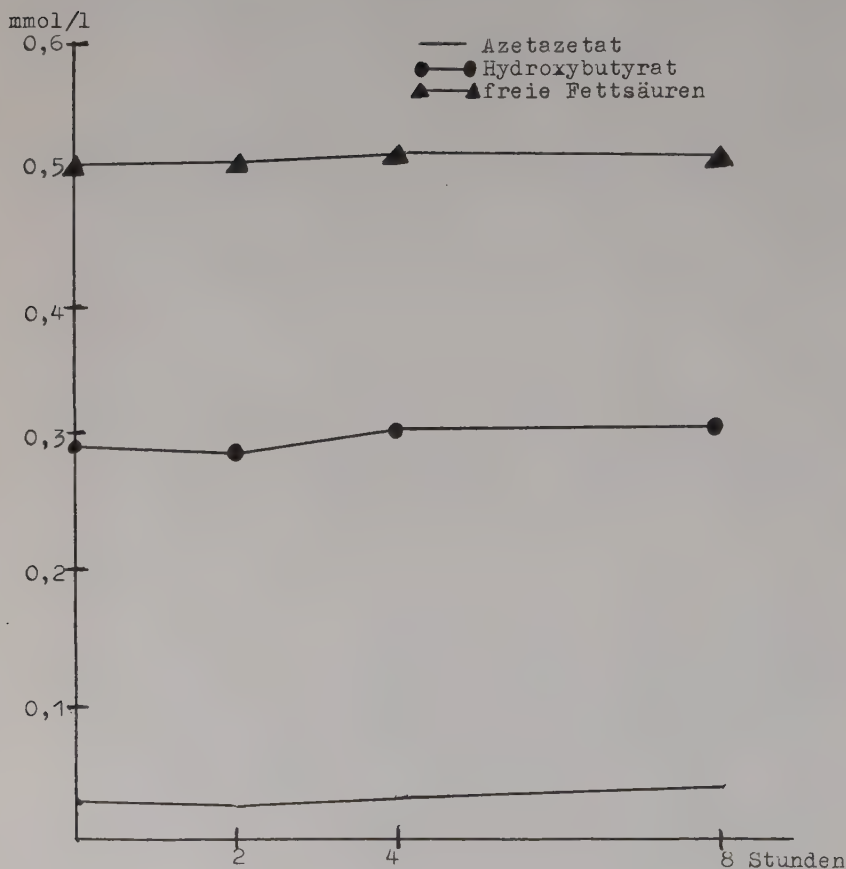


Abb. 2: Verlauf der mittleren Serumkonzentrationen von Glukose und Triglyceriden bei vier gesunden Kühen innerhalb von acht Stunden

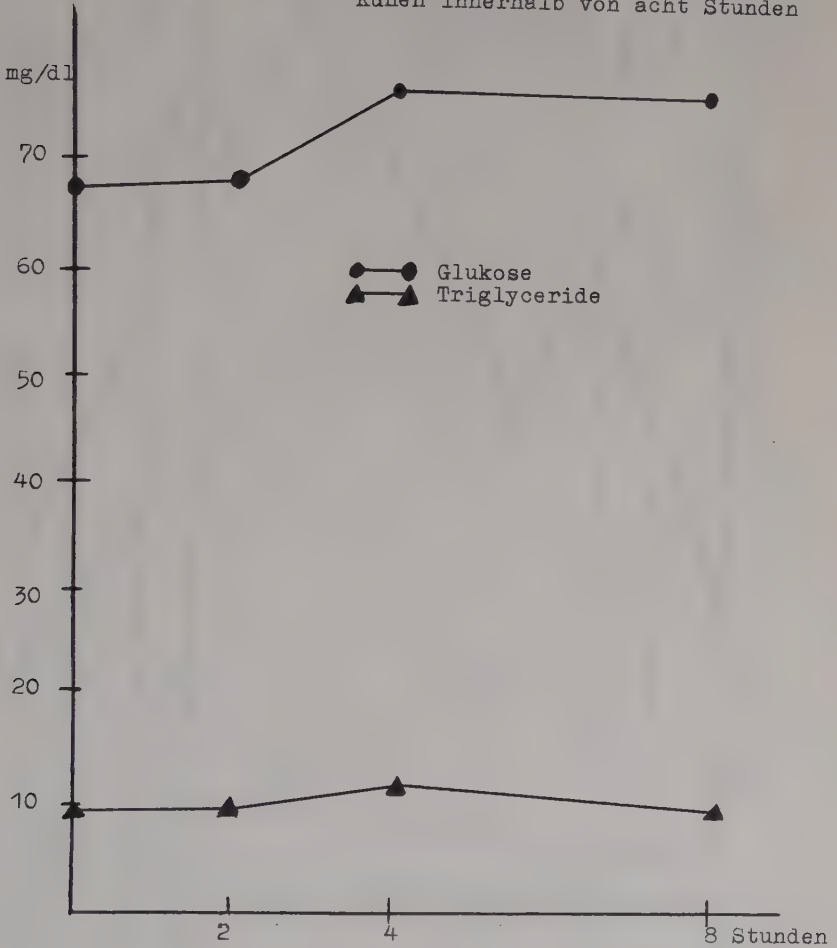


Abb. 3: Verlauf der Blut- bzw. Serumkonzentrationen von Azetazetat, β -Hydroxybutyrat und der freien Fettsäuren bei einer gesunden Kuh (Nr. 5) nach intravenöser Verabreichung von 2,5 g Etomoxir

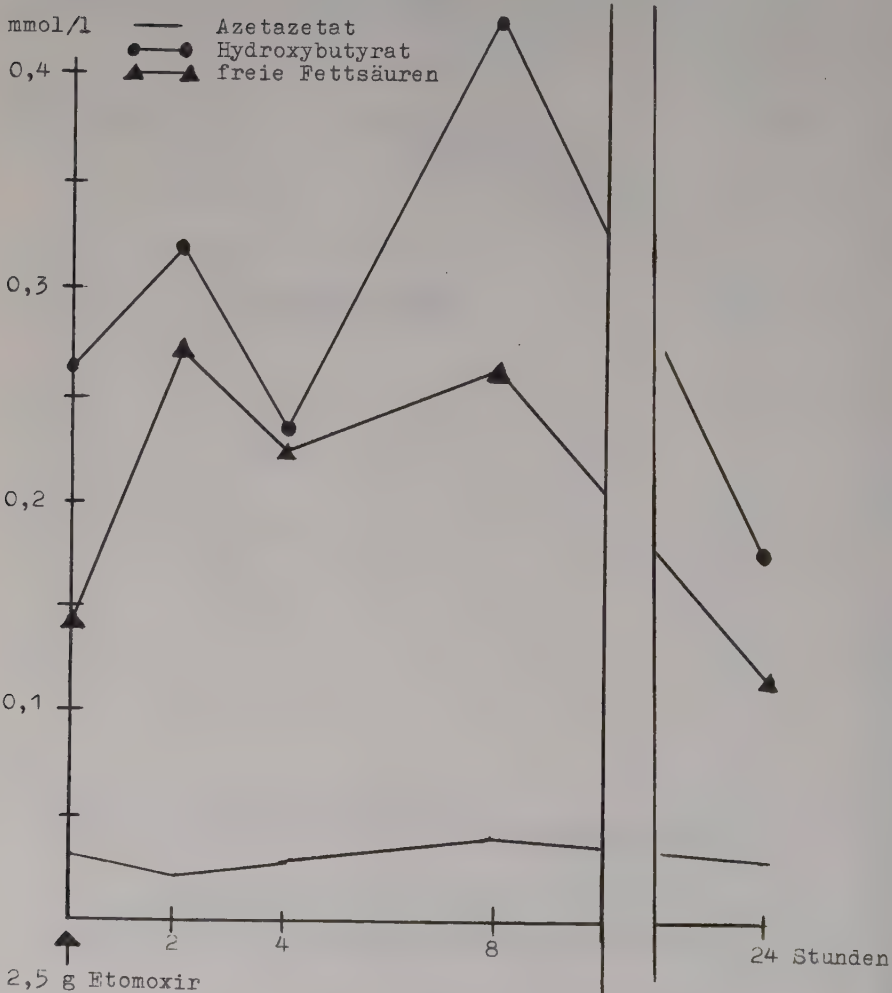


Abb. 4: Verlauf der Serumkonzentrationen von Glukose und Triglyceriden bei einer gesunden Kuh (Nr. 5) nach intravenöser Verabreichung von 2,5 g Etomoxir

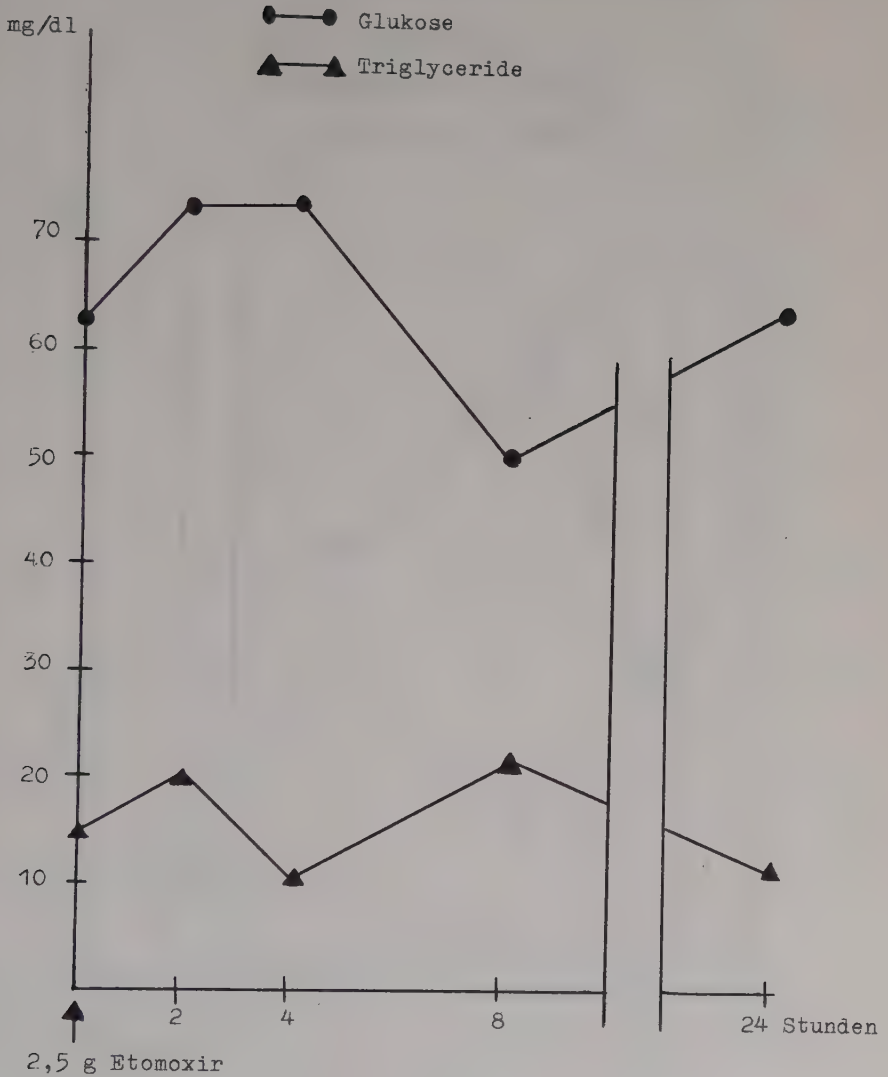


Abb. 5: Verlauf der Blut- bzw. Serumkonzentrationen von Azetazetat, β -H ydroxybutyrat und der freien Fettsäuren bei einer gesunden Kuh (Nr. 6) nach intravenöser Verabreichung von 2,5 g Etomoxir

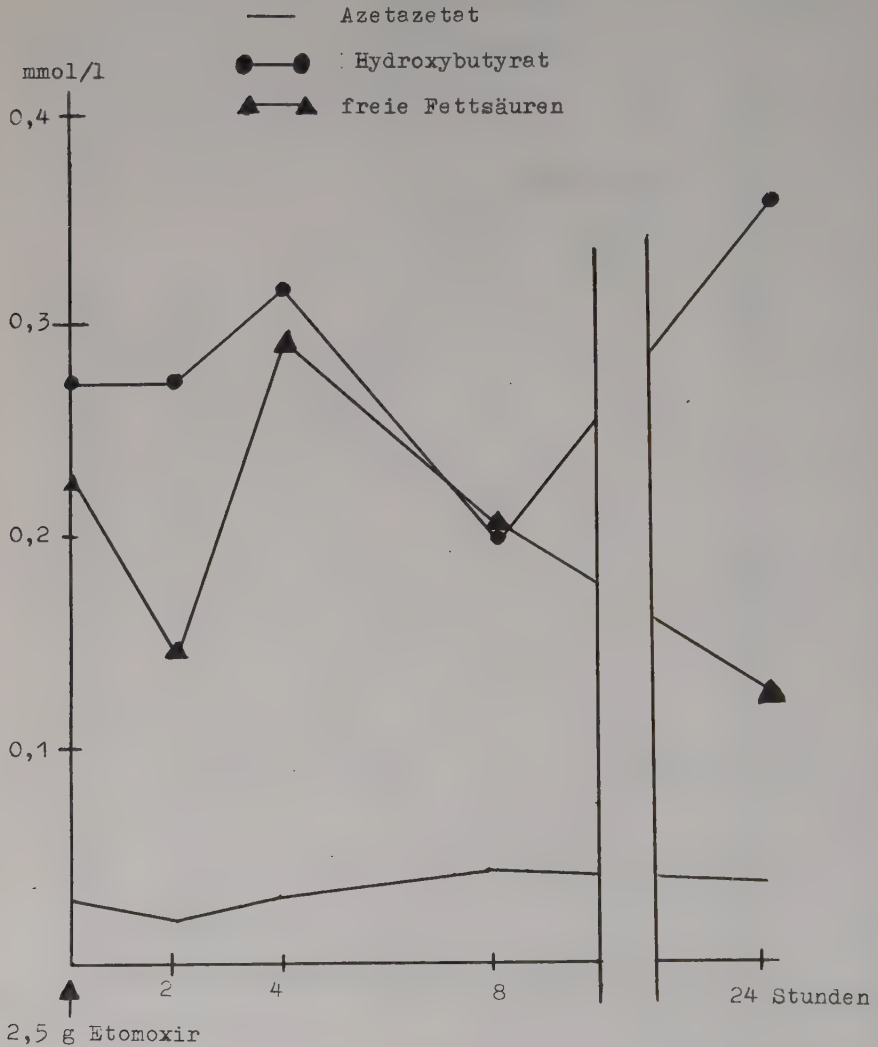


Abb. 6: Verlauf der Serumkonzentrationen von Glukose und Triglyceriden bei einer gesunden Kuh (Nr. 6) nach intravenöser Verabreichung von 2,5 g Etomoxir

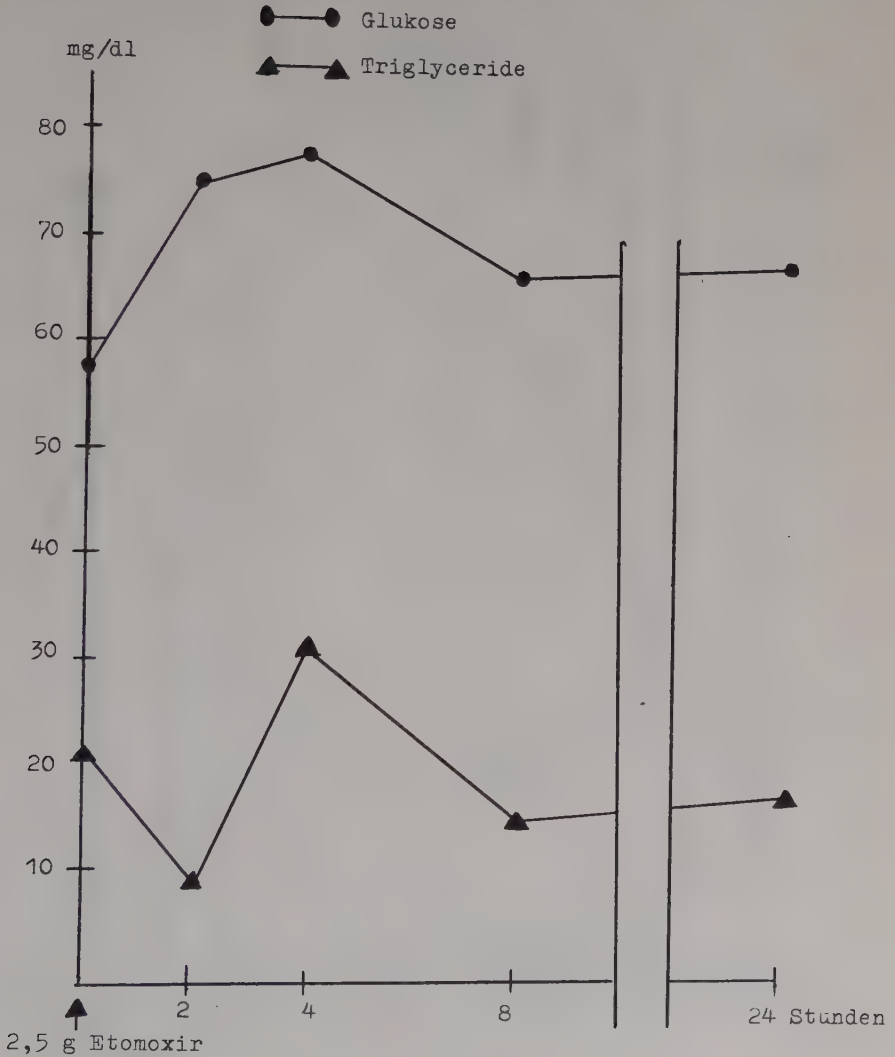


Abb. 7: Verlauf der mittleren Blut- bzw. Serumkonzentrationen von Azetazetat, β -Hydroxybutyrat und der freien Fettsäuren bei Kühen mit Ketonurie nach intravenöser Verabreichung von 2,5 g Etomoxir pro Tier (n = 4)

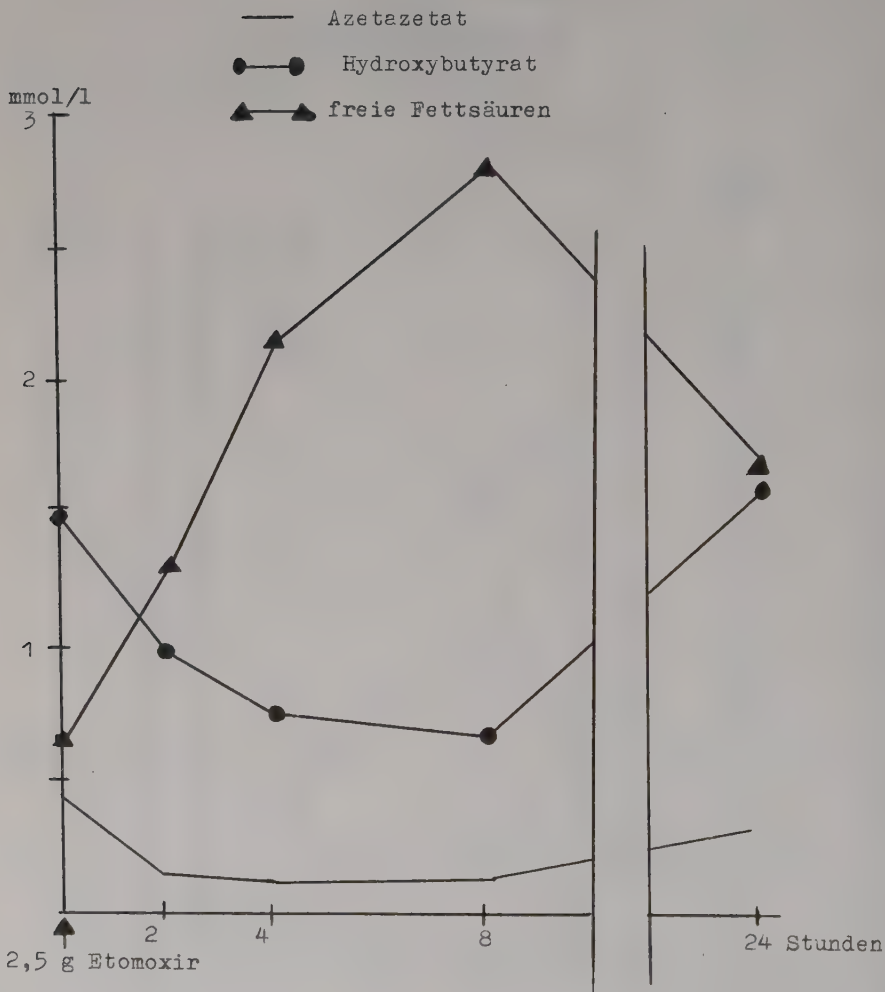


Abb. 8: Verlauf der mittleren Serumkonzentrationen von Glukose und Triglyceriden bei Kühen mit Ketonurie nach intravenöser Verabreichung von 2,5 g Etomoxir pro Tier (n = 4)

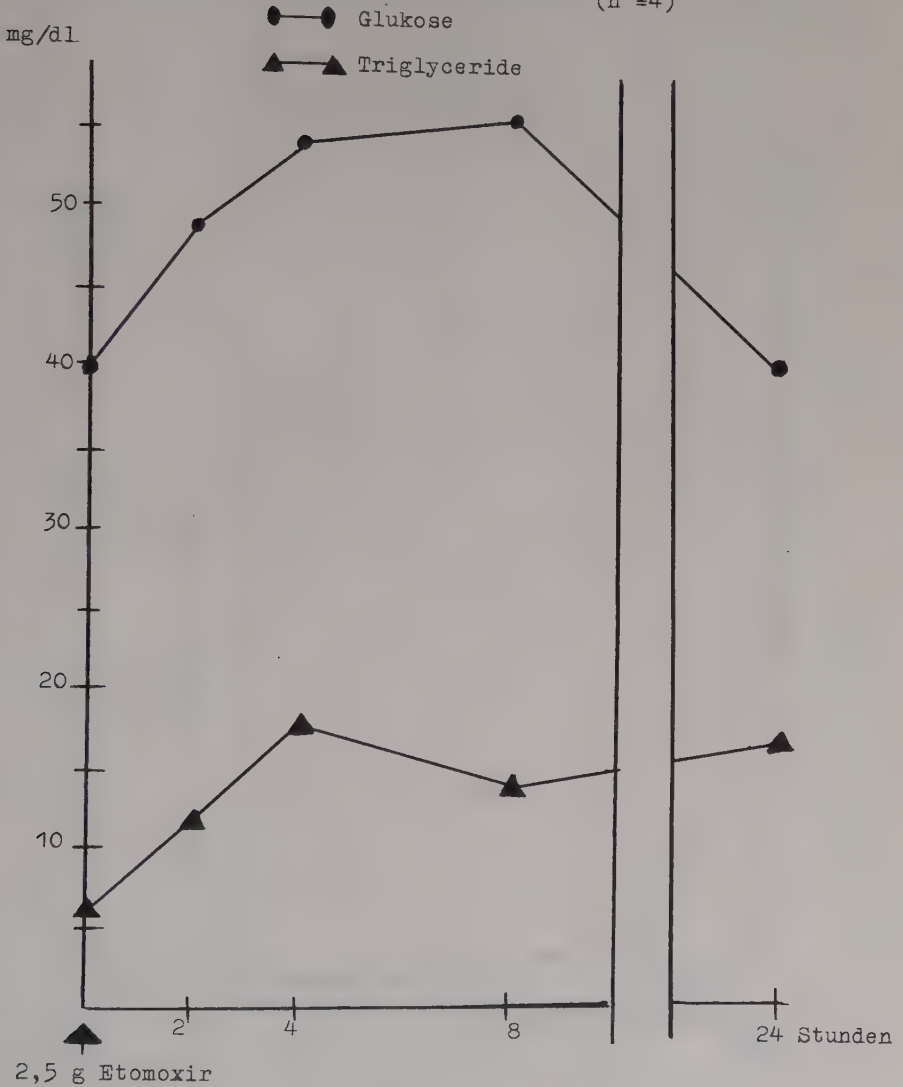


Abb. 9: Verlauf der Blut- bzw. Serumkonzentration von Azetazetat, β -Hydroxybutyrat und der freien Fettsäuren bei einer Kuh mit Ketonurie (Nr. 10) nach intravenöser Verabreichung von 5,0 g Etomoxir

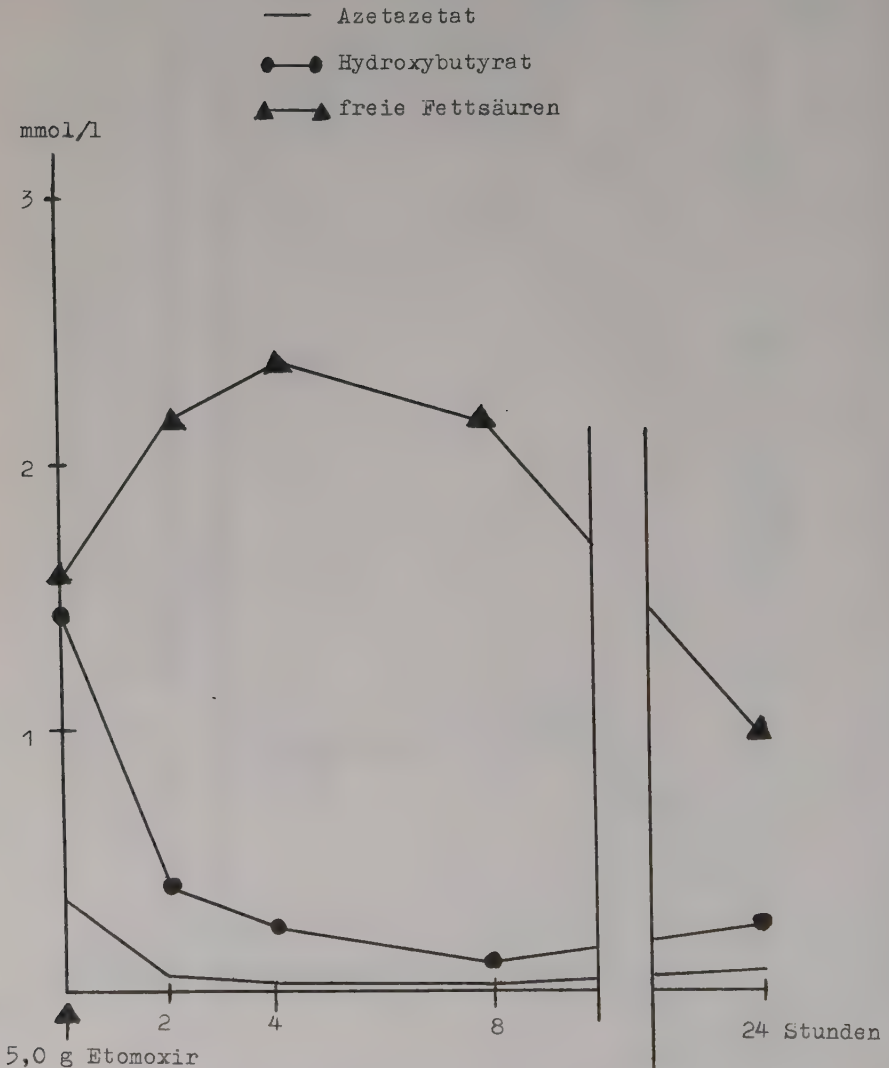
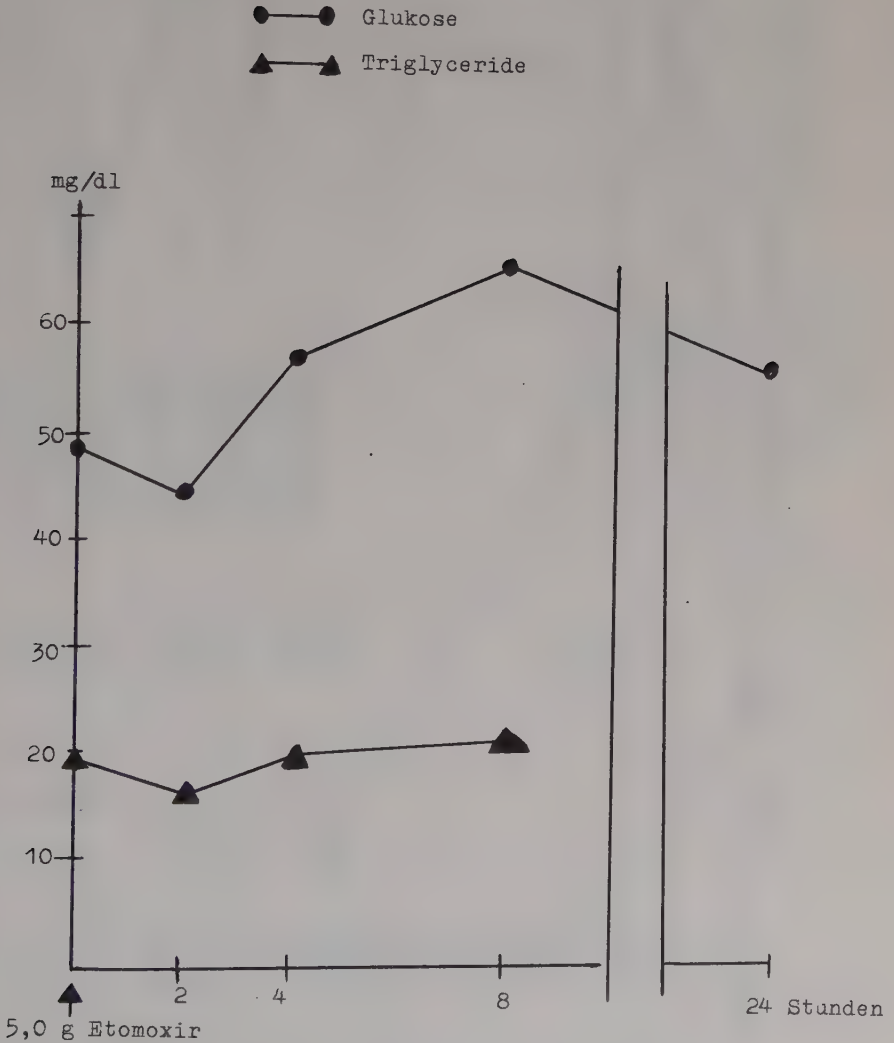
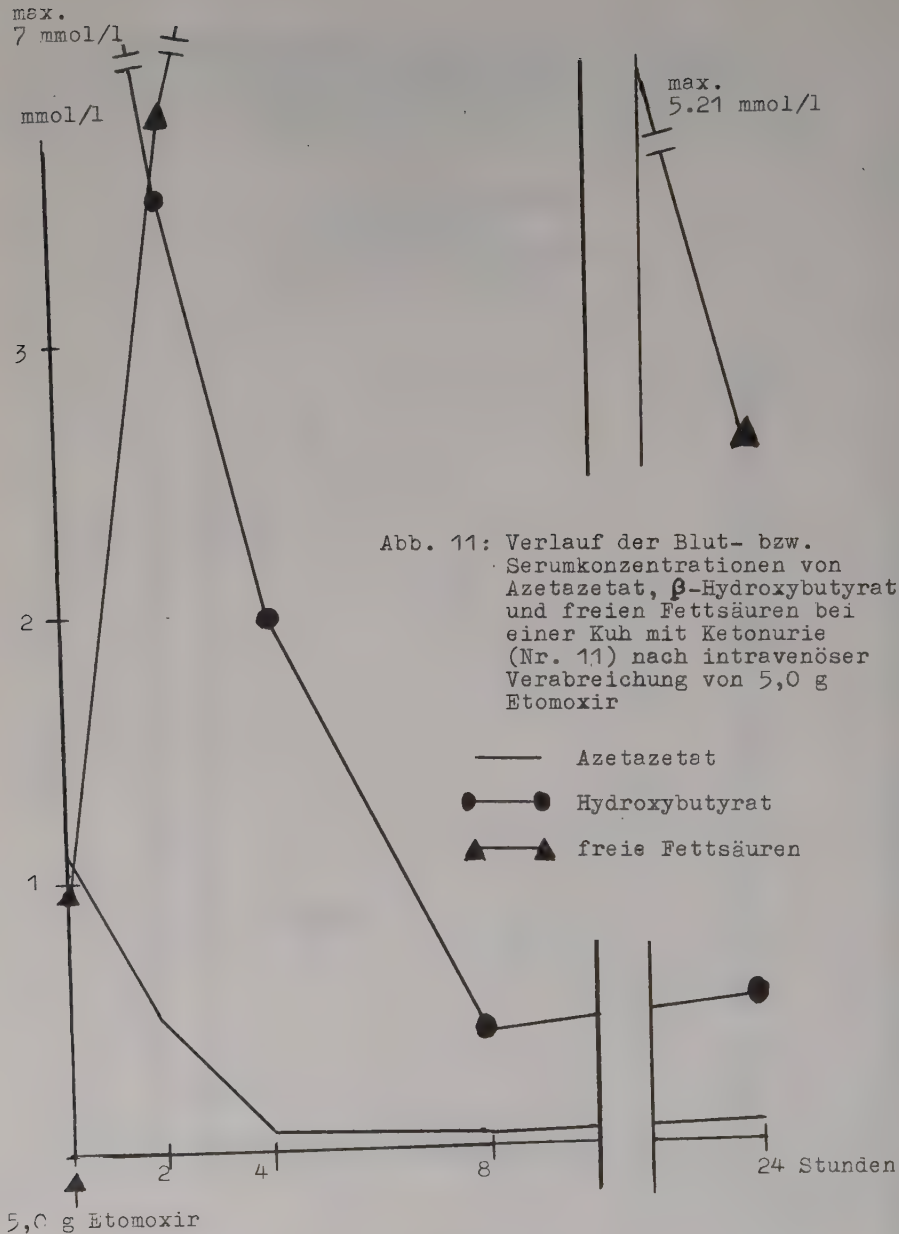


Abb. 10: Verlauf der Serumkonzentrationen von Glukose und Triglyceriden bei einer Kuh mit Ketonurie (Nr. 10) nach intravenöser Verabreichung von 5,0 g Etomoxir





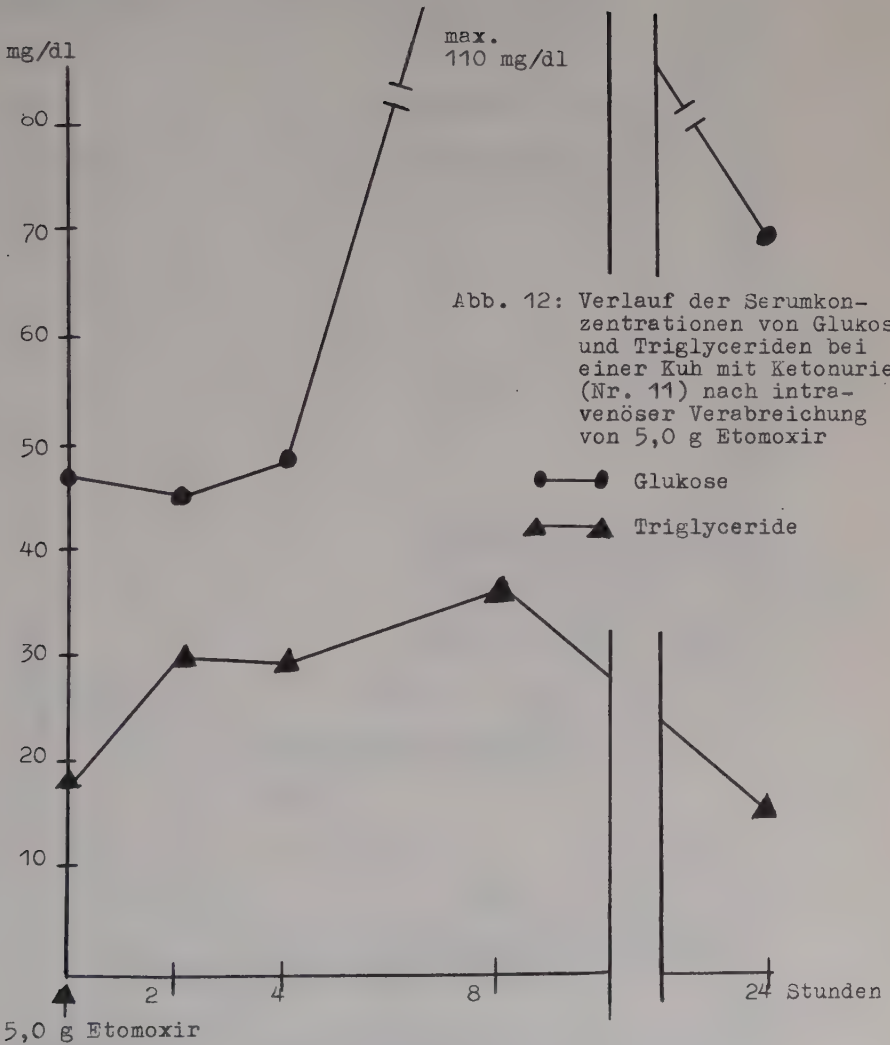
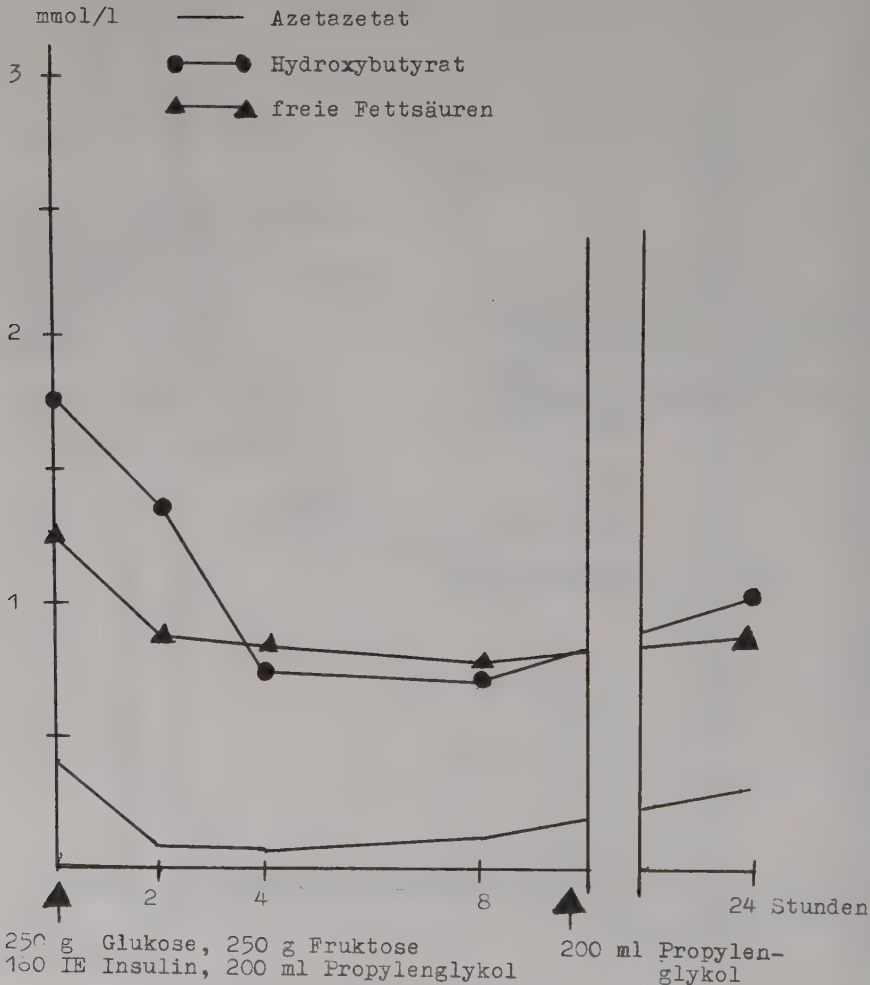


Abb. 13: Verlauf der mittleren Blut- bzw. Serumkonzentrationen von Azetazetat, β -Hydroxybutyrat und der freien Fettsäuren bei drei Kühen mit Ketonurie nach Infusion von 250 g Glukose und 250 g Fruktose und Verabreichung von 160 IE Insulin und 2*200 ml Propylen-glykol



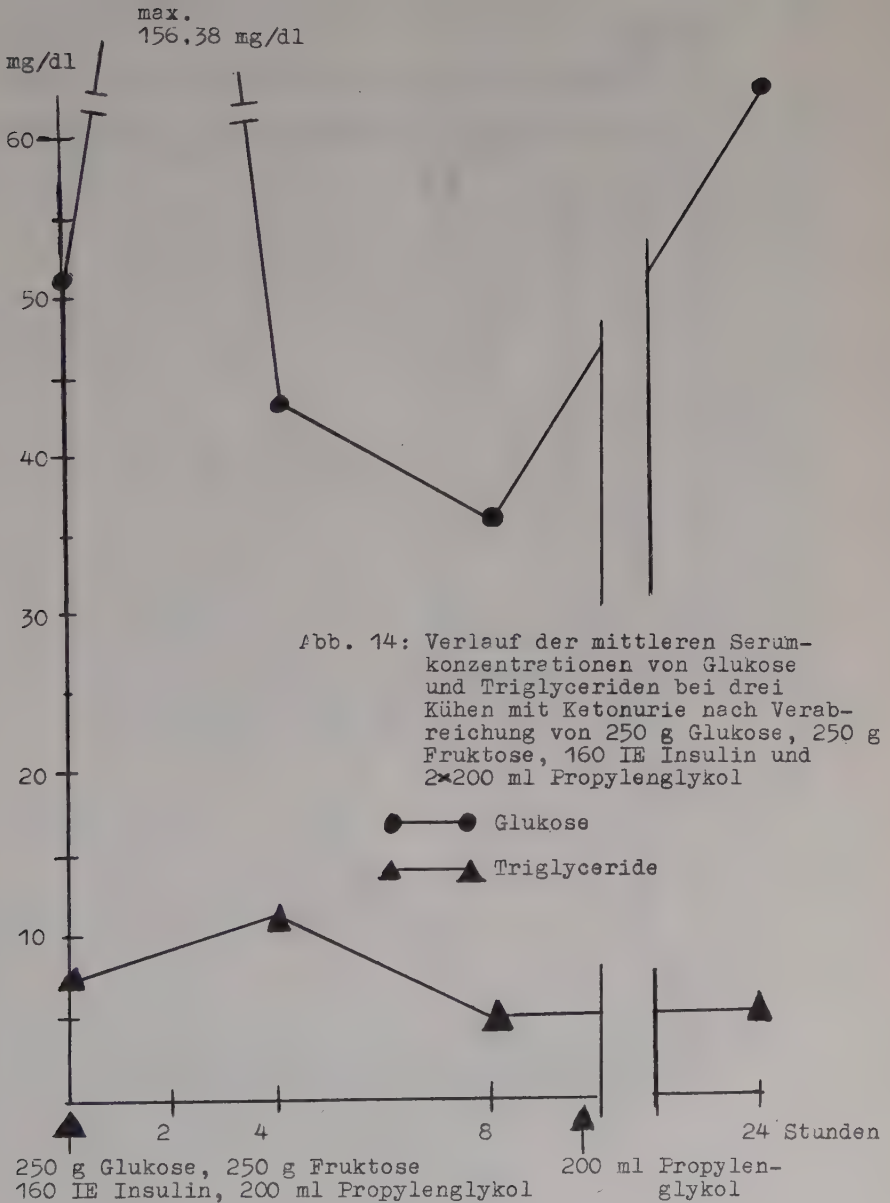
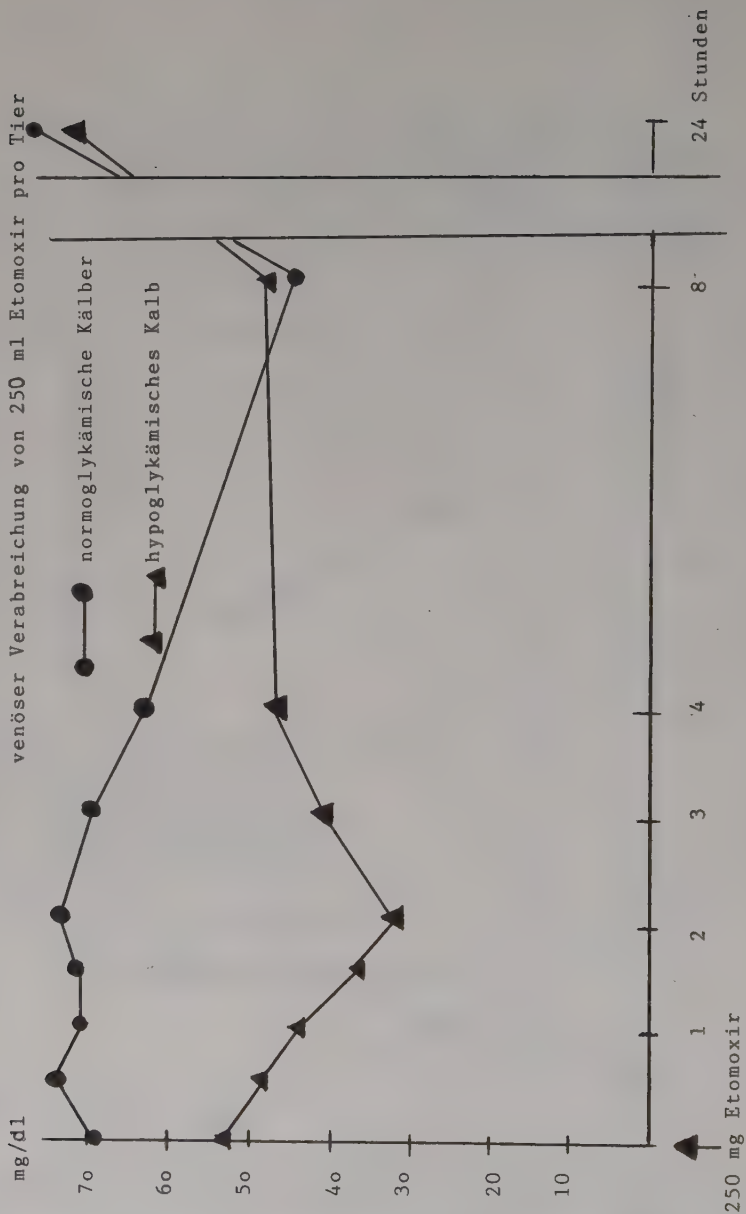


Abb. 15: Verlauf der mittleren Serunkonzentrationen der Glukose bei drei normoglykämischen Kälbern und bei einem hypoglykämischen Kalb nach intravenöser Verabreichung von 250 ml Etomoxir pro Tier



L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

ADLER, J.H., E. WERTHEIMER, U. BARTANA und J. FLESH
(1963):

Free fatty acids (FFA) and the origin of ketone
bodies in cows.

Vet. Rec. 75, 304-307

ADLER, J.H. (1975):

Bihormonal control of ketogenesis.

Nutr. Rev. 33, 347-349

ANDERSSON, L. (1984):

Concentrations of blood and milk ketone bodies,
blood isopropanol and plasma glucose in dairy
cows in relation to the degree of hyperketonaemia
and clinical signs.

Zbl. Veterinärmed. A 31, 683-693

ANONYM, (1968):

Gluconeogenesis and bovine ketosis.

Nutr. Rev. 26, 313-315

BÄSSLER, K.-H., (1971):

Die Rolle von Oxalacetat bei der gesteigerten
Ketogenese und beim antiketogenen Effekt.

Z. ges. exp. Med. 156, 56-60

BAIRD, G.D., R.J. HEITZMANN, K.G. HIBBIT und
G.D. HUNTER, (1974):

Bovine ketosis: A review with recommendations for
control and treatment.

Br. vet. J. 130, 214-219; 318-325

BERGMANN, E.N. (1970)

Hyperketonemia- ketogenesis and ketone body
metabolism

J. Dairy Sci. 54, 930-946

BERGMEYER, U. und E. BERNT (1965):

Enzymatische Bestimmung von Keton-Körpern im Blut.
Enzym. biol. clin. 5, 65-76

BICKERSTAFF, R., E.F. ANNISON und J.L. LINZELL (1974):

The metabolism of glucose, acetat, lipids and
aminoacids in lactating dairy cows.

J. agric. Sci. 82, 71-85

BROCKMANN, R.P. (1978):

The roles of glucagon and insulin in the
regulation of metabolism in ruminants.

Can. vet. J. 19, 55-62

DALE, H., L. VIK-MO und P. FJELLHEIM (1979):

A field survey of fat mobilisation and liver
function of dairy cows during early lactation.

Nord. Vet.-Med. 31, 97-105

DOLE, V.P. und H. MEINERTZ (1960):

Microdetermination of long-chain fatty acids in plasma and tissues.

J. biol. chem. 235, 2595-2599

DUNCOMBE, W.G. (1964):

The colorimetric micro-determination of non-esterified fatty acids in plasma.

Clin. Chim. Acta 9, 122-128

EMERY, R.S., N. BURG, L.D. BROWN und G.N. BLANK (1964):

Detection, occurrence and prophylactic treatment of borderline ketosis with propylene glycol feeding.

J. Dairy Sci. 47, 1074-1079

FORENBACHER, S. (1967):

Die Leberverfettung bei der Azetonämie der Milchkühe mit besonderer Berücksichtigung der Störungen im Stoffwechsel einiger Tricarbonsäuren. Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 80, 4-8

FRONK, T.J. und L.H. SCHULTZ (1979):

Oral nicotinic acid as a treatment for ketosis. J. Dairy Sci. 62, 1804-1807

GIESECKE, D., G. DIRKSEN, R. GÜNZEL und G. BAUMER
(1975):

Über die glukogene Wirkung von 1,2-Propandiol
bei gesunden Kühen und bei Schafen mit
Phlorhizin-Diabetes
Dtsch. tierärztl. Wschr. 82, 97-136

GRÜNDER, H.-D. (1961):

Die Dauertropfinfusion beim Rind.
Dtsch. tierärztl. Wschr. 68, 677-682

HARMEYER, J. (1981):

Der Einfluß hoher Leistungen auf die Ketogenese
bei Milchkühen und die Wirkung einer Niacinzulage.
Dtsch. tierärztl. Wschr. 88, 401-404

HENRICSON, B., G. JÖNSSON und B. PEHRSON (1977):

Lipidmuster, Glukosekonzentration und Ketonkörper-
konzentration im Blut von Kühen.
Zbl. Veterinärmed. A 24, 89-102

HENSCHLER, D. (1980):

Äthylalkohol.
in: W. Forth, D. Henschler, W. Rummel (Hrsg)
Allgemeine und spezielle Pharmakologie und
Toxikologie, 3. Auflage
Bibliographisches Institut, Mannheim, 618-623

HOVE, K. (1978):

Insulin Secretion in lactating cows: Responses to glucose infused intravenously in normal, ketonemic and starved animals.

J. Dairy Sci. 61, 1407-1013

HOLLAND, P.C., A.E. SENIOR und H.S.A. SHERRAT (1973):

Biochemical effects of the hypoglycaemic compound Pent-4-enoic acid and related non hypoglycaemic fatty acids.

Biochem. J. 136, 173-184

JONES, M.D., L.I. BURD, E.L. MAKOWSKI, G. MESCHIA und F.C. BATTAGLIA, (1975):

Cerebral metabolism in sheep: A comparative study of the adult, the lamb, and the fetus.

Am. J. Physiol. 229, 235-239

KANMULA, R.G. (1976):

Ketone bodies by ovine brain in vivo.

Am. J. Physiol. 231, 1490-1494

KAUPPINEN, K. (1984):

ALAT, AP, ASAT, GGT und OCT Aktivitäten sowie Harnstoff- und Gesamtbilirubinkonzentrationen im Plasma von Milchkühen ohne und mit Ketose. Zbl. Veterinärmed. A 31, 567-576

KARLSON, P., W. GEROK und W. GROSS (1978):

Pathobiochemie
Georg Thieme Verlag, Stuttgart

KEAN, E.A. und C.J. POGSON (1979):

Inhibition of gluconeogenesis in isolated rat
liver cells by Methylcyclopropylpyruvate
(Ketohypoglycin).
Biochem. J. 182, 789-796

KEDENBURG, C.P. und M. MÜLLING (1971):

Der Einfluß von Nikotinsäure-, Glukose- und
Glukose-Insulin-Infusionen auf die
Konzentration von freien Fettsäuren und
Ketonkörpern im Blut laktierender Kühe.
Z. Tierphysiol. 27, 310-315

KINSELLA, J.F. und T.F. BUTLER (1969):

Liver lipids of lactating bovine: Fatty acid
composition.
J. Dairy Sci. 53, 604-606

KOLB, E. (1975):

Neuere Erkenntnisse zur Regulation des Kohlen-
hydrat- und Fettsäurestoffwechsels beim Wieder-
käufer.
Mh. Veterinärmed. 30, 739-745

KOLB, E. (1977):

Neuere Erkenntnisse zur Bedeutung des Insulins.
Mh. Veterinärmed. 32, 190-195

KOLB, E. (1981):

Neuere biochemische Erkenntnisse zum Mechanismus
der Entstehung und Verwertung der Ketokörper.
Mh. Veterinärmed. 36, 625-629

KOSAK, F. (1980):

Untersuchungen über die Konzentration der Freien
Fettsäuren im Blutplasma zur Ermittlung
stoffwechselphysiologischer Leistungsgrenzen bei
Hochleistungskühen.
München, Lud.-Max. Univ., Veterinärmed. Fak.,
Diss.

KRONFELD, D.S. (1961):

Metabolic aspects of ruminant ketosis.
Am. J. vet. Res. 22, 496-501

KRONFELD, D.S. (1965):

Plasma non-esterified fatty acid concentrations
in the dairy cow: Responses to nutritional and
hormonal stimuli, and significance in ketosis.
Vet. Rec. 77, 30-35

KRONFELD, D.S. (1969):

Excessive gluconeogenesis and oxalacetate
depletion in bovine ketosis.
Nutr. Rev. 27, 131-133

KRONFELD, D.S. (1971)

Hypoglycemia in ketotic cows.
J. Dairy Sci. 54, 949-960

LE MINH CHI, N. ROSSOW und M. SCHÄFER (1976):

Untersuchungen zum Verhalten einiger Parameter
des Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsels bei
Hochleistungskühen in den ersten Wochen post
partum.
Mh. Veterinärmed. 31, 41-45

LINDSAY, D.B. und B.P. SETCHELL, (1976):

The oxidation of glucose, ketone bodies and
acetate by the brain of normal and ketonaemic
sheep.
J. Physiol. 259, 801-823

METZGER, D. (1983):

Vergleichende Untersuchungen mit Traubenzucker
und Cholinchlorid bei der Ketose laktierender
Kühe unter besonderer Berücksichtigung des
Lipomobilisationssyndroms.
Hannover, Tierärztl. Hochsch., Diss.

MEYER, H. (1983):

Untersuchungen über die Fettgewebslipolyse
zu Beginn der Laktation bei Kühen mit hoher
Milchleistung.
München, Lud.-Max. Univ., Veterinärmed. Fak.,
Diss.

METZ, S.H.M. und S.G. VAN DEN BERGH (1977):

Regulation of fat mobilisation in adipose
tissue of dairy cows in the period around
parturition.

Neth. J. agric. Sci. 25, 198-211

MÄDER, F. (1980):

Die Bedeutung der Ketonkörperkonzentration in
Blut, Milch und Urin in der Ketosedagnostik bei
der Milchkuh.

Zürich, Univ., Veterinärmed. Fak., Diss.

MORROW, D.A. (1975):

Fat cow syndrome.

J. Dairy Sci. 59, 1625-1629

RADLOFF, H.D., L.H. SCHULTZ und W.G. HOEKSTRA (1966):

Relationship of plasma free fatty acids to other
blood components in ruminants under various
physiological conditions.

J. Dairy Sci. 49, 179-182

REID, I.M. (1973):

An ultrastructural and morphological study of
the liver of the lactating cow in starvation
ketosis.

Exp. Mol. Pathol. 18, 316-330

ROBERTS, S.J. und J.A. DYE (1951):

The treatment of acetonemia in cattle by
continuous intravenous injection of glucose.
Cornell Vet. 41, 3-10

SCHULTZ, L.H. (1968):

Ketosis in dairy cattle.
J. Dairy Sci. 51, 1133-1140

SCHULZ, R. und H. KEWITZ (1971):

Hemmung der Lipolyse durch Dimethylisoxazol und
Dimethylpyrazol zur Behandlung der Ketoacidose
des Rindes.
Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 84, 161-180

SCHWALM, J.W. und L.H. SCHULTZ (1976):

Relationship of insulin concentration to blood
metabolites in the dairy cow.
J. Dairy Sci. 59, 255-261

STEGER, H., B. PIATOWSKI und H. GRISCHEWSKI (1972):

Die Wirkung von Propylenglykol und Methionin auf
die Glukosekonzentration.
Arch. Tierernähr. 22, 217-221

STEVENS, C.E. und B.K. STETTLER (1966):

Factors affecting the transport of volatile fatty
acids across rumen epithelium.
Amer. J. Physiol. 210, 365-372

STÖBER, M. und G. DIRKSEN (1982):

Das Lipomobilisationssyndrom (Verfettungssyndrom)
der Milchkuh.

Prakt. Tierarzt 63, Colleg. Vet. 79-88

STÖBER, M. und H.D. GRÜNDER (1977):

Kreislauf

In: Rosenberger, G. (Hrsg)

Die klinische Untersuchung des Rindes, 2. Auflage
Parey Verlag, Berlin, Hamburg

TUTWILER, G.F. und R. MOHRBACHER (1979):

Methyl 2-Tetradecylglycidate, an orally effective
hypoglycemic agent that inhibits long-chain fatty
acid oxidation selectively.

Diabetes 28, 242-248

VAZQUEZ, R.C.A. (1970):

Prüfung des Glukose- und des Ketonkörpergehaltes
im Blut azetonämiekranker Kühe im Vergleich zum
klinischen Bild.

Hannover, Tierärztl. Hochsch., Diss.

WEIGAND, E., I.W. YOUNG und A.D. MCGILLARD (1972):

Extent of butyrate metabolism by bovine
ruminoreticulum epithelium and the relationship
absorption rate.

J. Dairy Sci. 55, 589-597

WILLIAMSON, D.H. (1981):

Mechanisms for the regulation of ketogenesis.
Proc. Nutr. Soc. 40, 93-98

WILLIAMSON, D.H. und J. MELLANBY (1974):

β -Hydroxybuttersäure- und Azetazetatnachweis
In: Bergmeyer, U. (Hrsg.)
Methoden der enzymatischen Analyse.
Verlag Chemie, Weinheim, 1983-1890

WILLIAMSON, D.H., J. MELLANBY und H.A. KREBS (1962):

Enzymatic determination of D(-)-B-hydroxybutyric
acid and acetoacetic acid in blood.
Biochem. J. 82, 90-96

WOLF, H.P.O., K. EISTETTER und G. LUDWIG (1982):

Phenyloxirane carboxylic acids, a new class of
hypoglycaemic substances: Hypoglycaemic and
hypoketonaemic effects of sodium 2 [(5- (4-
chlorophenyl)- penty $\bar{1}$) - oxirane- 2- carboxylate
(B 807-27) in fasted animals.
Diabetologia 22, 456-463

WOLF, H.P.O. und D.W. ENGEL (1985):

Decrease of fatty acid oxidation, ketogenesis
and gluconeogenesis in isolated perfused rat
liver by phenylalkyl oxirane carboxylate (B 807-
27) due to inhibition of CPT I (EC 2.3.1.21).
Eur. J. Biochem. 146, 359-363

WOLFSCHAFFNER, J. (1984):

Untersuchungen über Metabolite des Fettstoffwechsels
im Blutplasma von Kühen und Kalbinnen der Rasse
Holstein- Friesian.
München, Lud.-Max. Univ., Veterinärmed. Fak.,
Diss.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof Dr. Dr. h.c. G. Dirksen für die Überlassung des Themas und die stets bereitwillige und freundliche Unterstützung bei der Erstellung dieser Arbeit.

Herrn Prof. Dr. J. Meyer vom Lehr- und Versuchsgut Oberschleißheim danke ich für die Bereitstellung von Kühen für die Untersuchungen.

Ferner danke ich Herrn Dr. rer. nat. H.P.O. Wolf von der Firma Byk Gulden, Konstanz für die Bestimmung der freien Fettsäuren und für Anregungen zur Bearbeitung des Themas.

Herzlich danken möchte ich auch allen Beschäftigten der II. Medizinischen Tierklinik, besonders Herrn Dr. Seitz und Frau Völkl, für die vielfältige Unterstützung bei der Durchführung meiner Untersuchungen.

LEBENS LAUF

Name: Ruth Elisabeth Steinke

geb.: 22.12.1959 in Singen

Eltern: Max Steinke, Richter

Hildegard Steinke, geb. Beeker

Schul- und Berufsausbildung:

- 1966 - 69 Besuch der Ekkehard-Volksschule in Singen
- 1969 - 78 Besuch des Hegau-Gymnasiums in Singen,
Abschluß am 9. Mai 1978 mit dem Reifezeugnis
- 1978 - 81 Studium der Tiermedizin an der LMU München
- 1981 - 82 Immatrikulation an der Tierärztlichen
Hochschule Wien
- 1982 - 84 Fortführung des Studiums der Tiermedizin an
der LMU München, am 20. Juli 1984 Abschluß mit
der Tierärztlichen Prüfung, im Oktober 1984
Erteilung der Approbation als Tierarzt
- seit Juni 1985 Arbeit an meiner Dissertation an der
II. Medizinischen Tierklinik bei
Prof. Dr. Dr. h.c. G. Dirksen in München
- Mai 86 - August 86 Mitarbeit in einer Gemischtpraxis
in Bunde, Ostfriesland
- seit September 1986 Assistentin in der Gemischtpraxis
Dr. Stark, Salem

